Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON W. **RUHLAND** UND H. **WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, W. **SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON
L. BRAUNER MÜNCHEN
E. BÜNNING TÜBINGEN

56. BAND, 4. HEFT
MIT 63 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 6. MÄRZ 1961)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1961

Planta (Berl.)

Preis DM 25.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland*, *L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Die eingereichten Arbeiten sollen 2 Druckbogen (à 16 Druckseiten) in der Regel nicht überschreiten.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e.V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität,

oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 83 03 01, Fernschreibnummer 01-83 319
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2 79 01, Fernschreibnummer 04-61 723

56. Band **Inhaltsverzeichnis** 4. Heft

Seite

SCHWEMMLE, J., Keimversuche auf genetischer Grundlage. V. Versuche mit Samen von Homozygoten. Mit 16 Textabbildungen 357

SCHWEMMLE, J., und H. GROSS, Keimversuche auf genetischer Grundlage. VI. Der Einfluß der Unterlage auf die Keimung von Samen der aufgepfropften Reiser. Mit 9 Textabbildungen 377

HAUPT, W., und R. THIELE, Chloroplastenbewegung bei *Mesotaenium*. Mit 10 Textabbildungen 388

ZIEGLER, H., und G. H. VIEWEG, Der experimentelle Nachweis einer Massenströmung im Phloem von *Heracleum mantegazzianum* SOMM. et LEV. Mit 2 Textabbildungen . . . 402

KREEB, K., und M. ÖNAL, Über die gravimetrische Methode zur Bestimmung der Saugspannung und das Problem des negativen Turgors. II. Mitteilung. Die Berücksichtigung von Atmungsverlusten während der Messungen. Mit 4 Textabbildungen . . . 409

BRAUNER, L., und M. BRAUNER, Versuche zur Analyse der geotropischen Perzeption. Die Veränderung der osmotischen Saugkraft im Schwerefeld. Mit 6 Textabbildungen 416

PLEMPEL, M., und W. DAWID, Die zygotropische Reaktion bei Mucorineen. II. Mitteilung. Mit 9 Textabbildungen 438

SPARMANN, G., Morphologische und biochemische Untersuchungen an vernalisierten und nichtvernalisierten Gerstenpflanzen. Mit 6 Textabbildungen 447

HAUSTEIN, E. Eine androgene haploide *Oenothera scabra*. Kurze Mitteilung. Mit 1 Textabbildung 475

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta 56, 357—376 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen

KEIMVERSUCHE AUF GENETISCHER GRUNDLAGE
V. VERSUCHE MIT SAMEN VON HOMOZYGOTEN

Von

J. SCHWEMMLE*

Mit 16 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. November 1960)

In einer früheren Mitteilung (SCHWEMMLE 1960) war über Keimversuche mit Samen der *Oenothera Berteriana*, der *Oenothera odorata* und verschiedener Formen aus Kreuzungsfolgen berichtet worden. Besonders auffallend waren die großen mehrfachen Schwankungen der Keimung innerhalb eines Jahres, die keine Gesetzmäßigkeiten erkennen ließen und nicht erklärt werden konnten. Nun wurden bei anderen Samen, so z.B. bei den von BÜNNING untersuchten, jahresperiodische Schwankungen in der Keimfähigkeit, der Keimgeschwindigkeit und der Förderung der Keimung durch Licht gefunden, die auf eine endogene Jahresrhythmik im Samen hinwiesen. Es war nun durchaus möglich, daß auch die Schwankungen in der Lichtbedürftigkeit der untersuchten Oenotheren-Samen Ausdruck einer solchen endogenen Rhythmik sind. Daß diese Schwankungen, um ein Beispiel herauszugreifen, bei den Samen der *Oe. Berteriana* und der *Oe. odorata* nicht übereinstimmen, könnte darin seinen Grund haben, daß diese beiden Arten Komplexheterozygoten sind. Die *Oe. Berteriana* hat die beiden Komplexe B und *l*. Wenn wir nun annehmen, daß der Komplex B eine andere Rhythmik bewirkt als der Komplex *l*, dann erfassen wir im Versuch jeweils nur die Resultante der von den beiden Komplexen ausgehenden Wirkungen. Die mehrfachen Schwankungen bei der Keimung der Samen von *Oe. Berteriana* wären dann verständlich. Daß sie mit denjenigen bei den Samen der *Oe. odorata* mit den Komplexen v und I nicht übereinstimmen, könnte darin seinen Grund haben, daß die jahresperiodische Wirkung dieser beiden untereinander wieder verschiedenen Komplexe sich stark unterscheidet von derjenigen der Komplexe B und *l* der *Oe. Berteriana*.

Daraus müssen wir aber folgern, daß die Samen von Komplexheterozygoten für Untersuchungen zum Nachweis einer endogenen Rhythmik bei Oenotheren-Samen ungeeignet sind. Deshalb wurden die nachfolgend besprochenen Versuche mit Samen von Homozygoten gemacht.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei für die Mittel, die diese Untersuchungen ermöglichten, auch an dieser Stelle herzlich gedankt, ebenso Frl. Dr. RICHTER für ihre Hilfe.

* Herrn Prof. Dr. v. GUTTENBERG zum 80. Geburtstag gewidmet.

1. Material und Methode

Die Samen stammten von folgenden Homozygoten:

Oenothera longiflora (hl·hl). Die Summe sämtlicher durch Eizellen und Pollen vererbten Faktoren, gewissermaßen ihr Komplex, wurde hl genannt. Die Formel ist hl·hl. Durch unveröffentlichte Kreuzungen wurde die Homozygotie nachgewiesen. Die hl·hl hat, wie alle Homozygoten, in der Diakinese der Meiosis 7 Chromosomenpaare.

Oenothera scabra. Ihre Erbformel ist hsc·hsc. Sie wurde von v. SCHLENK untersucht.

I·I ist eine mit den Plastiden der *Oe. Berteriana* lebensfähige Homozygote mit dem Komplex I der *Oe. odorata* (v·I) (SCHWEMMLE 1938).

Oenothera argentinea (ha·ha) wurde von SCHWEMMLE und ZINTL untersucht.

Von allen 4 Formen waren 1955 an wenigen aufeinanderfolgenden Tagen zahlreiche reife Kapseln aus Freibestäubungen abgenommen worden. Die Samen aus diesen wurden gereinigt und gründlich durchgemischt. Es war angenommen worden, daß Freibestäubungen eigentlich Selbstungen wären, weil sich schon beim Aufblühen zumeist reichlich Pollen auf der Narbe befindet. Um sicher zu gehen, wurden von verschiedenen Formen, auch solchen, die hier nicht aufgeführt sind, Samen ausgelegt und die Keimlinge aufgezogen, bis man die aus Fremdbestäubungen stammenden Pflanzen identifizieren konnte. Dabei zeigte es sich, daß deren Anteil größer ist als erwartet. Er kann bis 10% betragen. Meist ist er aber geringer. Die Versuche sind dadurch wohl kaum beeinträchtigt. Aber auf Grund dieser Erfahrung wurden später nur noch Samen aus Selbstungen für Keimversuche verwendet. Die Methode war die gleiche wie bei den Versuchen der ersten Mitteilung. Auch bei den nachfolgend zu besprechenden Versuchen war die Keimung nach 10 Tagen abgeschlossen. Vom 30. 1.—3. 12. 56 wurden je 20 Versuche angesetzt. Um zu sehen, ob die etwa zu beobachtenden Schwankungen reell sind, wurden mit jeder Samensorte jeweils 5 Parallelversuche angesetzt, auch mit Samen der *Oe. argentinea*. Aber in den 8 Versuchsreihen vom 30. 1. bis zu den letzten am 28. 6. angesetzten hatte nicht ein Same gekeimt, auch nicht bei den Dauerlichtversuchen. Das ist nicht verwunderlich, weil erfahrungsgemäß die Samen immer schon 4—6 Wochen im Keimbett lagen ohne zu schimmeln, um aber dann sehr gut zu keimen. Auffallend ist nur, daß seit ein paar Jahren die Samen kaum noch zum Keimen zu bringen sind, so daß man Mühe hat, einige Pflanzen zum Halten und Kreuzen aufzuziehen. In früheren Jahren war das sicher nicht der Fall gewesen. Inwiefern die *Oe. argentinea* sich verändert hat, daß ihre Samen jetzt so schwer zum Keimen zu bringen sind, ist unbekannt.

2. Die Versuche

a) Dunkelversuche

In der Abb. 1 und den folgenden ist angegeben, wann die Versuche angesetzt wurden. Ursprünglich auf Millimeterpapier gezeichnet, betrug der Abstand zwischen den Versuchstagen soviel Millimeter als Tage zwischen dem Beginn der Versuche lagen. Wie schon oben angegeben, wurden von jeder Samensorte jeweils 5 Versuche gleichzeitig angesetzt. Es wäre verwirrend gewesen, in einer Abbildung für jede der 5 Versuchsreihen eine Kurve zu zeichnen. Deshalb wurden für die dick ausgezogenen Kurven der Abb. 1, 2, 4, 5, 8, 9 die Durchschnittwerte der jeweils 5 Versuche genommen. Um aber zu zeigen, wie stark die Keimung variierte,

wurden für die dünnen Kurven jeweils der höchste und der niedrigste Wert verwendet. Innerhalb dieser beiden Kurven variieren die Keimprozente. Falls die Durchschnittskurve wie in der rechten Hälfte der Abb. 1 etwa in der Mitte der Kurven für die Grenzwerte liegt, sind die anderen Werte gleichmäßig zwischen diesen verteilt. Wenn sie aber einer der dünnen Kurven stark genähert ist, dann fällt ein Wert heraus, so z. B. bei dem Versuch vom 27. 2. der Abb. 1 mit den Einzelwerten

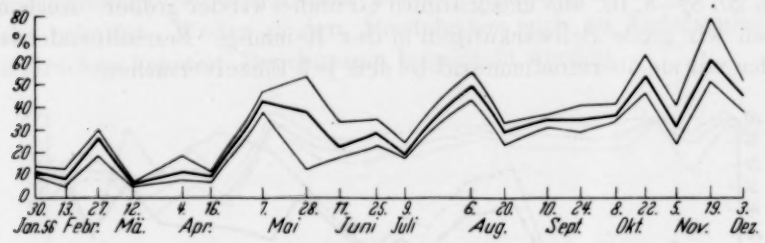


Abb. 1. Prozent Keimung von Samen der I·I bei den Dunkelversuchen.
——— Durchschnitt von 5 Versuchen
——— Grenzwerte

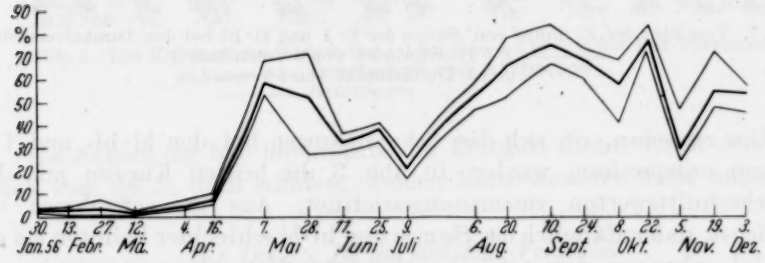


Abb. 2. Prozent Keimung von Samen der hl·hl bei den Dunkelversuchen.
——— Durchschnitt von 5 Versuchen
——— Grenzwerte

29,6%, 29,2%, 28,3%, 26,9% und 18,1% oder dem Versuch vom 4. 4. mit den Werten 18,3%, 11,1%, 10,6%, 9,1% und 7,5%.

Die Abb. 1 zeigt, wie die Samen der I·I im Dunkeln gekeimt haben. Im ganzen gesehen ist bei den ersten Versuchen die Keimung nicht gut, steigt aber bei dem Versuch vom 7. 5. 56 auf durchschnittlich 42,8% an, um bei dem am 19. 11. angesetzten Versuch 60,4% zu erreichen. Je älter die Samen werden, desto besser keimen sie. Das ist bei den Oenotheren-Samen ganz allgemein der Fall. Besonders auffallend sind aber die großen Schwankungen, die fast durchweg bei allen gleichzeitig angesetzten 5 Vergleichsversuchen gleichsinnig verlaufen. Die Streuung ist im allgemeinen gering. Auffallend groß aber ist sie bei den am 28. 5. angesetzten Versuchen (53,2%, 43,7%, 42,3%, 38,6% und 12,3%).

Die Samen der *Oe. longiflora* (hl·hl) keimten in den ersten 6 Versuchen schlecht (Abb. 2), bei den Versuchen vom 7. 5. aber plötzlich

mit durchschnittlich 58,9% recht gut. Die beste Keimung haben wir mit 77,3% bei den Versuchen vom 22. 10. Die Streuung bei den jeweils 5 Vergleichsversuchen ist anfänglich gering, besonders groß bei den Versuchen vom 28. 5.; die Werte sind 71,5%, 66,2%, 56,0%, 37,3% und 27,5%. Auch bei den am gleichen Tag angesetzten Versuchen mit Samen der I·I hatten wir diese auffallend großen Streuungen. Sie nehmen bei den Samen der *Oe. longiflora* wieder ab, sind dann aber bei den Versuchen vom 20. 8.—8. 10. aus unbekannten Gründen wieder größer. Auch hier haben wir große Schwankungen in der Keimung. Bezeichnenderweise finden wir sie übereinstimmend bei den je 5 Einzelversuchen.

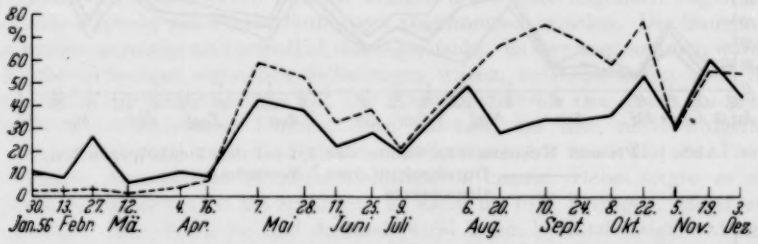


Abb. 3. Vergleich der Keimung von Samen der I·I und hl·hl bei den Dunkelversuchen.
——— I·I Durchschnitt von 5 Versuchen
--------- hl·hl Durchschnitt von 5 Versuchen

Um zu sehen, ob sich die Schwankungen bei den hl·hl- und I·I-Samen entsprechen, wurden in Abb. 3 die beiden Kurven mit den Durchschnittswerten zusammengezeichnet. Aus ihr entnehmen wir zunächst, daß anfänglich die Samen der hl·hl schlechter keimten als die der I·I., aber von dem am 7. 5. angesetzten Versuch an zumeist besser. Was aber besonders auffällt, ist die Übereinstimmung im Kurvenverlauf. Nur bei den Versuchen vom 20. 8.—24. 9. sind größere Unterschiede vorhanden. Während bei den Samen der I·I bei den Versuchen am 20. 8. die Keimung von 48,8% auf 28,9% abfiel, um dann allmählich auf 36,7% bei dem Versuch am 8. 10. anzusteigen, haben wir bei den Samen der hl·hl eine gleichmäßige Zunahme bis zu dem Maximum des Versuches vom 10. 9. von 75,5%; dann fällt die Kurve wieder ab.

Die Übereinstimmung im Verlauf der beiden Kurven könnte nun dahingehend gedeutet werden, daß die Versuchsbedingungen nicht konstant genug gehalten wurden und deshalb das eine Mal die Samen gut, ein anderes Mal aber schlechter keimten. Gewiß war noch kein Stabilisator zum Ausgleich von Stromschwankungen eingebaut gewesen; auch wurde noch nicht im Cadmium-Licht, sondern im Streulicht ausgezählt. Aber es ist eigentlich unnötig, zu sagen, daß die Temperatur im Thermostaten und bei den Belichtungsversuchen die Lichtintensität ständig kontrolliert wurden. Dabei waren keine auffallenden Schwankungen

festzustellen. Auch ist schwer zu verstehen, daß bei den Versuchen vom 7. 5.—9. 7. die Keimung bei beiden Samensorten gleichmäßig abnahm — der kleinen Zacke bei den Versuchen vom 25. 6. sei dabei keine weitere Bedeutung zugemessen — sofern solche Änderungen nur durch nicht konstant genug gehaltene Versuchsbedingungen zustande gekommen sein sollen. Daß das Auf und Ab in der Keimung übereinstimmend bei den je 5 gleichzeitig angesetzten Versuchen gefunden wurde ist besonders bemerkenswert. Wodurch aber diese Schwankungen bedingt sind, ist nicht bekannt. Weder zu den Mondphasen noch zu Änderungen des Luftdruckes konnten Beziehungen hergestellt werden.

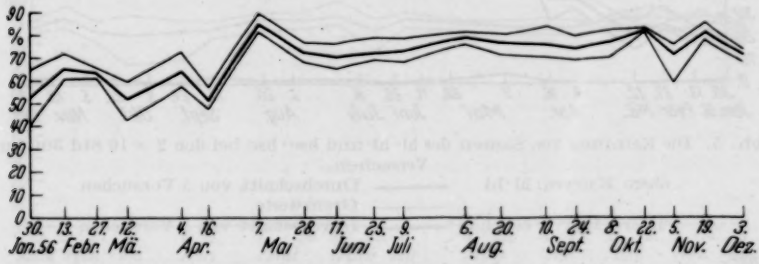


Abb. 4. Die Keimung von Samen der I·I bei den 2 × 10 Std 300 Lux-Versuchen.
——— Durchschnitt von 5 Versuchen
——— Grenzwerte

Die Samen der hsc·hsc keimten im Dunkeln nicht. Nach dem Versuch vom 28. 5., dem zehnten, wurden keine weiteren mehr angesetzt.

b) Die 2 × 10 Std 300 Lux-Versuche

Bei diesen wurden die Schalen mit den Samen am 1. und 2. Tag je von 8—18 Uhr mit 300 Lux belichtet. Bis zum 10. Tag blieben sie im verdunkelten Thermostaten. In der Abb. 4 sind die Kurven für die Durchschnitts- und Grenzwerte der Versuche mit Samen der I·I gezeichnet. Schon beim ersten Versuch ist die Keimung mit durchschnitttlich 52,9% recht gut, um in dem Versuch vom 7. 5. ihr nicht wieder erreichtes Maximum von 84,7% zu erreichen. Auch hier haben wir am Anfang und dann wieder am Schluß größere Schwankungen. Auch bei den Versuchen vom 7. 5.—22. 10. sind solche vorhanden, aber sie sind langfristiger und ausgeglichener. Die Streuung ist bei den ersten Versuchsreihen mit noch jüngeren Samen größer als bei den späteren. Aber bei den Versuchen vom 10. 9. beträgt die Differenz zwischen Höchst- und Tiefstwert doch wieder 14,7%, bei den Versuchen vom 5. 11. gar 16,6%, aber nur deshalb, weil ein Wert stark herausfällt (76,2%, 75,0%, 73,2%, 72,9% und 59,6%). Zumeist ist die Zu- und Abnahme der Keimung bei jedem der 5 Parallelversuche festzustellen.

Die Samen der hl·hl keimten bei den Versuchen vom 30. 1. mit durchschnittlich 17,7% noch schlecht (Abb. 5). Aber bereits in den Versuchen vom 7. 5. haben wir 77,4% Keimung. In späteren Versuchen ist sie noch besser. Die Streuung ist im allgemeinen nicht groß. Bei den Versuchen vom 11. 6. und 6. 8. fällt leider je ein Wert stark heraus

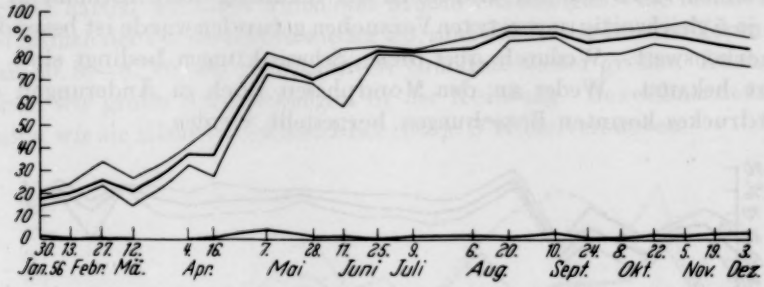


Abb. 5. Die Keimung von Samen der hl · hl und hsc · hsc bei den 2 × 10 Std 300 Lux-Versuchen.
obere Kurven: hl·hl — Durchschnitt von 5 Versuchen
Grenzwerte
untere Kurve: hsc·hsc — Durchschnitt von 5 Versuchen

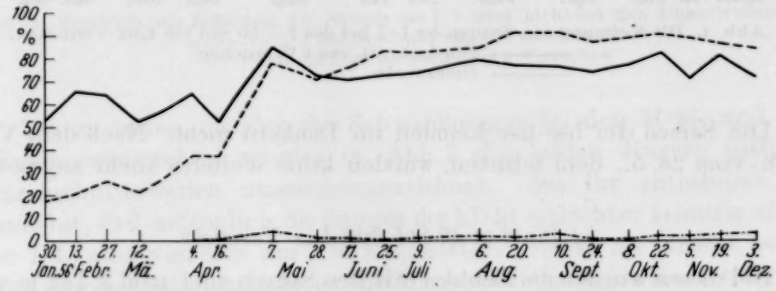


Abb. 6. Vergleich der Keimung von Samen der I·I, hl·hl und hsc·hsc bei den 2 × 10 Std 300 Lux-Versuchen.
I·I
hl·hl
hsc·hsc
} jeweils Durchschnitt von 5 Versuchen

(84,1%, 79,5%, 76,5%, 75,5%, 58,7% und 89,3%, 87,4%, 86,6%, 86,5%, 72,0%).

Bei diesen Bedingungen fangen auch die Samen der hsc·hsc zu keimen an. Aber wie die untere Kurve der Abb. 5 zeigt, war die Keimung noch schlecht, besonders am Anfang, da die Samen noch jünger waren. Die Kurven für die Grenzwerte wurden nicht gezeichnet; die Streuung war sehr gering.

In der Abb. 6 sind die Kurven der Durchschnittswerte gezeichnet, um zu sehen, ob die Schwankungen bei den verschiedenen Samensorten gleichsinnig verlaufen. Zuerst stellen wir fest, daß anfänglich die Samen der I·I viel besser keimen als diejenigen der hl·hl. Von den Versuchen

am 11. 6. an ist es aber umgekehrt. Die beiden Samensorten reifen verschieden nach. Bei den Samen der I·I schwankt am Anfang die Keimung recht stark. Von dem Maximum am 7. 5. nimmt sie stetig ab und dann wieder zu. Bei den Versuchen vom 6. 8.—22. 10. wiederholt sich das noch einmal. Um so mehr fallen die kurzfristigen Schwankungen bei den letzten Versuchen auf. Bei den Versuchen mit Samen der hl·hl haben wir annähernd die gleichen Schwankungen wie zuvor; nur sind sie zumeist weniger stark. Den stärksten Unterschied finden wir bei den Versuchen vom 20. 8. und 10. 9. Bei den I·I-Samen hat die Keimung abgenommen, bei den hl·hl-Samen aber zugenommen. Auch sinkt bei

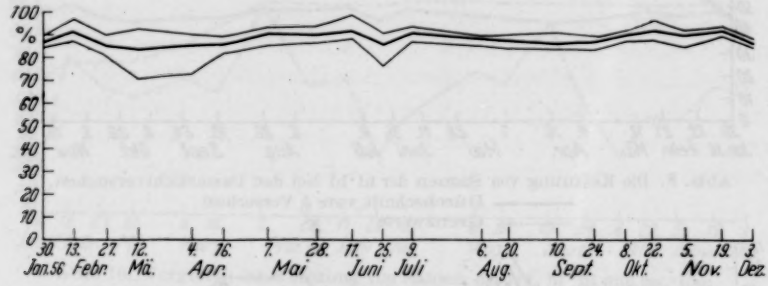


Abb. 7. Die Keimung von Samen der I·I bei den Dauerlichtversuchen.
——— Durchschnitt von 5 Versuchen
——— Grenzwerte

den hl·hl-Samen in den letzten Versuchen die Keimung gleichmäßig ab ohne die starken Schwankungen bei den Samen der I·I. Selbst die schlecht keimenden Samen der hsc·hsc haben wie die anderen bei den Versuchen vom 7. 5. besser gekeimt. Auch sonst haben wir im Verlauf der Kurve eine Übereinstimmung mit derjenigen für die hl. hl-Samen. Allerdings nimmt in den 3 letzten Versuchen die Keimung bei diesen ab, bei den Samen der hsc·hsc aber zu.

c) Die Dauerlichtversuche

Bei ihnen wurden die Samen kurz nach dem Anfeuchten am 1. Tag von 8—18 Uhr mit 300 Lux belichtet; ab 2. Tag 8 Uhr waren sie bis zum Abschluß des Versuches am 10. Tag im Dauerlicht.

Die Samen der I·I keimten bereits beim 1. Versuch vom 30. 1. 56 zu durchschnittlich 86,8%, bei dem 2. am 13. 2. schon zu 91,0% (Abb. 7). Die niedrigsten Werte von 83,2% und 86,0% bei den Versuchen vom 12. 3. und 10. 9. sind die Tiefpunkte von 2 flachen Depressionen im Kurvenverlauf, die auch bei den Einzelversuchen zu erkennen sind. Eine Keimung von 86,0% haben wir auch bei den Versuchen vom 25. 6. In 2 Einzelversuchen war die Keimung schlechter gewesen als bei den anderen (90,9%, 89,7%, 89,1%, 81,5% 76,7%). Im allgemeinen ist die

Streuung nicht groß, wohl aber bei dem Versuch vom 12. 3. (92,1%, 90,9%, 80,9%, 77,2%, 70,4%). Bei den Versuchen vom 4. 4. hatten in einem die Samen zu nur 72,8% gekeimt, in den 4 anderen zu 89,9—87,5%. Wodurch solche Abweichungen bedingt sind, ist unbekannt. Man hätte doch erwarten können, daß bei den jeweils gleichzeitig angesetzten 5 Versuchen große Unterschiede in der Keimung nicht auftreten würden.

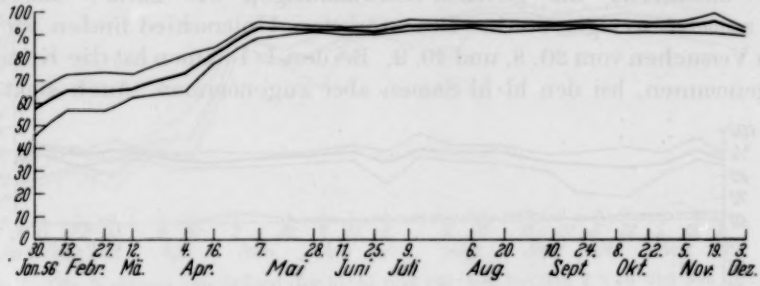


Abb. 8. Die Keimung von Samen der hl·hl bei den Dauerlichtversuchen.
——— Durchschnitt von 5 Versuchen
——— Grenzwerte

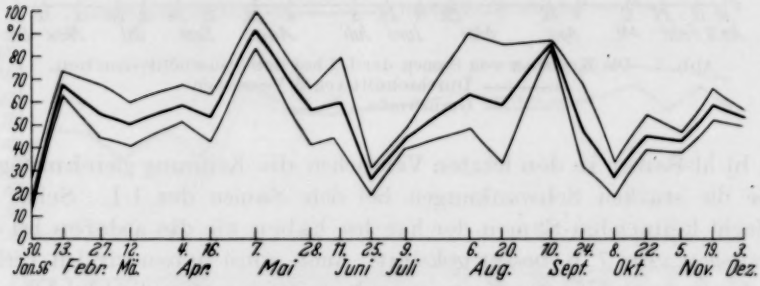


Abb. 9. Die Keimung von Samen der hsc·hsc bei den Dauerlichtversuchen.
——— Durchschnitt von 5 Versuchen
——— Grenzwerte

Die Samen der hl·hl keimten anfänglich zu nur 57,3% i.D. (Abb. 8). Aber die Keimung wird zunehmend besser. Bereits bei den Versuchen vom 7. 5. beträgt sie 93,0%; auf dieser Höhe hält sie sich auch. Auffallenderweise ist bei den jüngeren noch nicht nachgereiften Samen die Streuung jeweils bei den 5 Einzelversuchen größer als später.

Die Samen der hsc·hsc keimten bei den ersten Versuchen zu nur 16,8% i.D., dann aber gleich darauf zu 67,6% i.D. (Abb. 9). Die beste Keimung haben wir bei den Versuchen vom 7. 5. (91,5% i.D.) und denen vom 10. 9. (85,6%). Zweierlei fällt aber auf: einmal die großen Schwankungen in der Keimung, zum anderen die zumeist außerordentlich großen Streuungen bei den jeweils 5 Einzelversuchen, von denen aber jeder für sich die gleichen Schwankungen zeigt wie die Kurven mit den Durchschnittswerten. Woher es kommt, daß bei den Versuchen vom

25. 6. die Samen zu nur 26,7% i.D. keimten und bei denjenigen vom 8. 10. ebenso schlecht (27,7%), wissen wir nicht. Wenn wir von den kleineren Schwankungen absehen, so nimmt die Keimung von einem Maximum allmählich bis zu einem Minimum ab, um dann bis zum nächsten Maximum langsam anzusteigen. Ein solches Absinken der Keimung wurde übrigens auch bei der sog. Nachkeimung am Fenster von Samen der *Oe. Berteriana* beobachtet, die zuvor im Dunkelversuch nicht gekeimt hatten. Trocknet man die auch bei der Nachkeimung nicht gekeimten Samen und legt sie dann erneut aus, wenn die Keimung

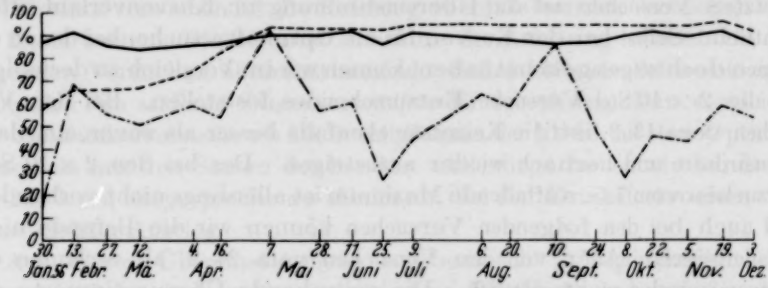


Abb. 10. Vergleich der Keimung von Samen der I·I, hl·hl und hsc·hsc bei den Dauerlichtversuchen.

I·I
hl·hl
hsc·hsc
} jeweils Durchschnitt von 5 Versuchen

wieder gut geworden ist, dann keimen sie ebenso gut wie die anderen. Sie waren also seinerzeit durchaus keimfähig gewesen und haben dann das Austrocknen gut ertragen.

In der Abb. 10 sind die Kurven mit den Durchschnittswerten für die 3 Samensorten zusammengezeichnet. Die Samen der hl·hl keimten bis zu den Versuchen vom 7. 5. zunehmend besser und hielten sich dann auf der erreichten Höhe. Die I·I-Samen keimten von Anfang an recht gut. Zwei langfristige Depressionen im Kurvenverlauf möchte man doch trotz der kleinen Unterschiede für reell halten. Das kurze Absinken bei den Versuchen vom 25. 6. kann man als zufällig betrachten. Immerhin haben wir aber bei den Versuchen mit den Samen der hsc·hsc am gleichen Tag ein ausgesprochenes Minimum. Auch die erste Depression im Kurvenverlauf für die I·I-Samen könnte bei der Kurve für die Samen der hsc·hsc ihre Entsprechung haben, keinesfalls aber die zweite.

d) Der Vergleich der Versuche

An Hand der Abb. 3, 6 und 10 sollen die Kurven der Keimung bei den 3 Versuchsbedingungen verglichen werden, um zu ermitteln, ob bei den 3 Samensorten immer die gleichen Schwankungen zu beobachten sind. Vergleichen wir zunächst die 2×10 Std- und die Dunkelversuche

mit Samen der I·I (Abb. 3 und 6). Bei den ersteren ist das Ansteigen der Keimung in den Versuchen vom 27. 2. gleich wie in den Dunkelversuchen zu erkennen; nur ist auch bei den Versuchen vom 13. 2. die Keimung besser geworden. Ganz ausgesprochen ist beidemal die gute Keimung bei den Versuchen vom 7. 5. Selbst die kleine Zacke im Kurvenverlauf für die Dunkelversuche (4. 4.) hat bei der Kurve für die 2×10 Std-Versuche ihre Entsprechung. Höhepunkte der Keimung haben wir beidemal bei den Versuchen vom 7. 5., 6. 8. und 22. 10. Nur sind die Depressionen bei den 2×10 Std-Versuchen kleiner und ausgeglichener. Bei den 3 letzten Versuchen ist die Übereinstimmung im Kurvenverlauf offensichtlich. Selbst bei den Kurven für die Optimalversuche, bei denen die Samen doch so gut gekeimt haben, können wir im Vergleich zu derjenigen für die 2×10 Std-Versuche Entsprechendes feststellen. Bei den Versuchen vom 13. 2. ist die Keimung ebenfalls besser als zuvor, um dann abzusinken und hernach wieder anzusteigen. Das bei den 2×10 Std-Versuchen vom 7. 5. auffallende Maximum ist allerdings nicht vorhanden, und auch bei den folgenden Versuchen können wir die Befunde nicht parallelisieren. Aber von den Versuchen vom 24. 9. ab verlaufen die Kurven wieder recht ähnlich. Die weitgehende Übereinstimmung des Kurvenverlaufes bei den 3 Versuchsbedingungen schließt die Möglichkeit aus, daß z. B. der Anstieg bei den Dunkelversuchen vom 7. 5. einfach dadurch zu erklären ist, daß die Samen beim Auszählen der Keimlinge zu viel Licht bekamen. Vielmehr könnte man annehmen, daß die Samenkeimung bei der I·I eine endogene Rhythmik erkennen läßt, und zwar um so deutlicher, je geringer die Belichtung ist.

Vergleichen wir nunmehr den Kurvenverlauf bei den Dunkel- und 2×10 Std-Versuchen mit Samen der hl·hl. In jedem Fall nimmt die Keimung bis zu den Versuchen vom 7. 5. zu. Der Abfall hernach und der Anstieg bis zu den Versuchen vom 10. 9. ist beidemal vorhanden, aber bei den 2×10 Std-Versuchen viel weniger ausgeprägt. Später ist die Übereinstimmung weniger deutlich. Immerhin ist noch zu erkennen, daß die Samen bei den Versuchen vom 22. 10. wieder sehr gut gekeimt haben. So könnten wir auch für die Samen der hl·hl eine endogene Rhythmik vermuten. Aber es ist doch dann verwunderlich, daß bei den Dunkelversuchen mit Samen der I·I und hl·hl die Kurven — bis auf die 3 Versuche vom 24. 8.—24. 9. — weitgehend übereinstimmen. Man sollte doch meinen, daß die Samen der so anders konstituierten hl·hl eine andere Rhythmik haben als diejenigen der I·I. Bei den Dauerlichtversuchen haben die Samen der hl·hl anfänglich auch noch schlechter gekeimt, um bereits bei den Versuchen vom 7. 5. die höchste Keimung zu erreichen. Die Schwankungen sind zu gering, als daß sie mit denjenigen bei den 2×10 Std-Versuchen parallelisiert werden könnten.

Die Samen der hsc·hsc haben bei den 2×10 Std-Versuchen so schlecht gekeimt, daß ein Vergleich mit den Optimalversuchen kaum

möglich ist. Immerhin erkennt man, daß die bei den letzteren so ausgesprochen gute Keimung bei den Versuchen vom 7. 5. und 10. 9. auch dort erkennbar ist.

Vergleichen wir nun nochmals die Abb. 3 und 10, so stellen wir fest, daß die Keimung der hl·hl- und zumeist auch der I·I-Samen im Dunkeln verblüffend ähnlich verläuft wie die Keimung der hsc·hsc-Samen bei den Optimalversuchen. Einen ersten Anstieg der Keimung haben wir hier bei den Versuchen vom 13. 2. Bei den I·I-Samen haben wir diesen allerdings erst bei den Versuchen vom 29. 2. Aber bei den 2 × 10 Std- und Optimalversuchen ist die Keimung ebenfalls bei den Versuchen vom 13. 2. am besten. Die Zu- und Abnahme der Keimung ist auch bei den folgenden Versuchen übereinstimmend. Selbst kleinere Schwankungen haben bei den anderen Samensorten ihre Entsprechung. Man vergleiche nur die Dunkelversuche ab 10. 9. mit Samen der hl·hl mit den Optimalversuchen mit den Samen der hsc·hsc. Allerdings haben wir bei diesen am 26. 6. ein ausgesprochenes Minimum, bei den Dunkelversuchen aber einen kleinen Anstieg.

Aus dieser Übereinstimmung ergeben sich 2 Möglichkeiten: Die Schwankungen sind durch eine endogene Rhythmik bedingt, die allerdings überraschenderweise bei den Samen der 3 genetisch so verschiedenen Formen etwa die gleiche sein würde. Eine Wiederholung der Versuche müßte ergeben, ob diese Annahme richtig ist. Es wäre aber auch denkbar, daß die mehrfachen charakteristischen Schwankungen durch noch unbekannte und deshalb nicht kontrollierbare Außeneinflüsse zustande kommen. In diesem Fall würden vermutlich bei einer Wiederholung der Versuche die Kurven mit den hier besprochenen nicht übereinstimmen.

3. Die Lichtbedürftigkeit der Samen bei der Keimung

Da die Samen der hl·hl und I·I schon im Dunkeln keimen, besser aber in den 2 × 10 Std 300 Lux- oder gar in den Dauerlichtversuchen, gehören sie in die Kategorie der Samen, deren Keimung durch Licht gefördert wird. Die Samen der hsc·hsc keimen aber erst nach Belichtung. Sie sind obligate Lichtkeimer. Nun haben wir bei den 2 × 10 Std-Versuchen große Schwankungen feststellen können. Zu den verschiedenen Versuchszeiten war also die Keimbereitschaft ganz unterschiedlich. Es ist nun die Frage, ob sich darin ausdrückt, daß die Lichtbedürftigkeit der Samen verschieden groß war. Wenn die Samen in den Dauerlichtversuchen von Anfang an zu 100% oder fast 100% gekeimt hätten, könnte die gestellte Frage ohne weiteres bejaht werden. Da aber bei den Dauerlichtversuchen die Samen der hl·hl wegen der notwendigen Nachreife anfänglich schlechter keimten als später und bei allen größere oder kleinere Schwankungen vorkommen, so müssen wir die Keimprozente bei den 2 × 10 Std-Versuchen prozentual auf die Keimprozente bei den Dauerlichtversuchen beziehen. Bei den 2 × 10 Std-Versuchen

vom 12. 3. 56 haben die Samen der hl·hl zu 21,0%, bei den gleichzeitig angesetzten Dauerlichtversuchen zu 66,6% gekeimt. Als Wert für die Lichtbedürftigkeit bekommen wir $\frac{21{,}0 \times 100}{66{,}6} = 31{,}5\%$. Je kleiner der Wert ist, desto größer ist die Lichtbedürftigkeit der Samen; je größer er ist, desto geringer ist sie. Es ist nun die Frage, ob diese Art der Berechnung richtig ist und ob Schwankungen im Verlauf der Kurve mit den errechneten Werten auf eine wechselnde Lichtbedürftigkeit der Samen hinweisen. Nehmen wir an, die Samen hätten in 5 aufeinanderfolgenden Dauerlichtversuchen zu 75,0%, 84,4%, 88,8%,

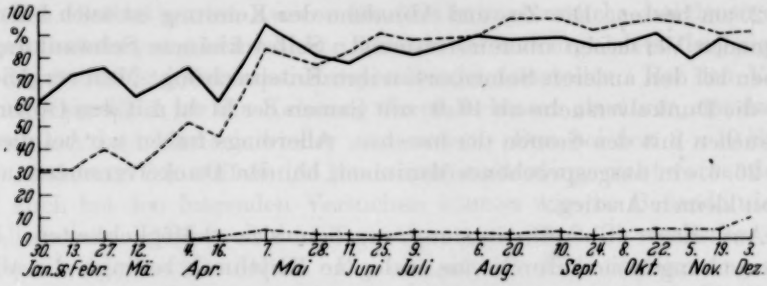


Abb. 11. Die Lichtbedürftigkeit von Samen der I·I, hl·hl und hsc·hsc.

——— I·I
- - - - - - - - hl·hl
—·—·— hsc·hsc
} jeweils Durchschnitt von 5 Versuchen

91,4% und 94,0%, in den 2×10 Std-Versuchen zu 37,5%, 42,2%, 44,4%, 45,7% und 47,0% gekeimt, so würde sich in jedem Fall ein Wert von 50% für die Lichtbedürftigkeit errechnen, die in diesem Fall immer dieselbe geblieben wäre. Hätten wir aber bei den 2×10 Std-Versuchen die Werte 34,8%, 28,3%, 47,5%, 39,8% und 32,0%, so wären die errechneten Werte 46,4%, 33,5%, 53,5%, 43,4% und 34,0%. In diesem Fall hätte die Keimung bei jedem Versuch im Vergleich zu den Dauerlichtversuchen verschieden stark abgenommen. Die Lichtbedürftigkeit der Samen hätte sich von Versuch zu Versuch geändert.

In der Abb. 11 sind die Kurven der Lichtbedürftigkeit für die 3 Samensorten gezeichnet. Anfänglich sind die schneller nachreifenden Samen der I·I weniger lichtbedürftig als diejenigen der hl·hl. Aber von den am 11. 6. angesetzten Versuchen an ist es zumeist gerade umgekehrt. Allerdings sind die Unterschiede nicht so groß wie am Anfang. Bei den Samensorten sind die älter gewordenen Samen weniger lichtbedürftig als die noch nicht ganz nachgereiften in den ersten Versuchen. Übrigens zeigen die Versuche auch, daß man zu entgegengesetzten Ergebnissen kommen kann, wenn man zu verschiedenen Zeiten in wenigen aufeinanderfolgenden Versuchen die Lichtabhängigkeit der Keimung bestimmt. Weiterhin fallen die Schwankungen in der Lichtbedürftig-

keit der Samen auf. Vergleichen wir nun die Kurven der Abb. 11 mit denjenigen der Abb. 3 mit den Keimprozenten bei den Dunkelversuchen, so sehen wir besonders bei den Kurven für die Samen der I·I, weniger ausgesprochen bei denjenigen der hl·hl, eine überraschende Übereinstimmung im Kurvenverlauf, die im einzelnen nicht besprochen zu werden braucht. Dann ist aber bei den Samen, die in den Dunkelversuchen besser gekeimt haben als in den Versuchen zuvor und hernach, wie z.B. bei den am 7. 5. angesetzten, bei denen gewissermaßen die Keimbereitschaft größer war, auch die Lichtbedürftigkeit geringer. Bei den Samen, die im Dunkeln weniger gut gekeimt haben, ist die Lichtbedürftigkeit größer. Diese wechselt in den aufeinanderfolgenden Versuchen in gleicher Weise wie die Keimung im Dunkeln. Ob das ein Hinweis auf eine endogene Rhythmik ist, oder sich darin ein Einfluß unbekannter Versuchsbedingungen äußert, ist die gleiche Frage, die wir oben schon gestellt haben und nicht beantworten konnten. Die Kurve der Abb. 11 für die hsc·hsc-Samen zeigt, daß diese bis zuletzt sehr viel lichtbedürftiger sind als die beiden anderen Samensorten. Von den großen Schwankungen, die wir bei den Dauerlichtversuchen mit hsc·hsc-Samen hatten, ist kaum etwas zu merken. Sie sind nur angedeutet.

4. Der Keimverlauf

Da jeden Tag die Keimlinge ausgezählt wurden, konnte auch der Keimverlauf verfolgt werden. Dafür wurden die an den verschiedenen Versuchstagen angesetzten 5 Parallelversuche mit den 3 Samensorten jeweils zusammengenommen. Für die 20 Versuche vom 30. 1.—3. 12. wurden die Summenkurven gezeichnet. Aus diesen wurden die typischen für die folgenden Abbildungen ausgewählt.

Wie die Abb. 10 zeigt, haben bei den Dauerlichtversuchen die I·I-Samen bis zu den am 16. 4. angesetzten besser gekeimt als die Samen der hl·hl. Allerdings ist zuletzt der Unterschied sehr gering. In Übereinstimmung damit haben die Samen der I·I bei den Versuchen vom 30. 1.—4. 4. zumeist etwas schneller gekeimt als die Samen der hl·hl. Aber wie die Abb. 12a zeigt, ist der Unterschied nicht groß. Bei den Versuchen vom 27. 2. ist überhaupt keiner vorhanden. Die zumeist schlechter keimenden Samen der hsc·hsc keimen langsamer als die beiden anderen. Fast immer überholt in den letzten Tagen die Kurve für diese diejenige für die hl·hl-Samen, zuweilen auch die für die I·I-Samen. Bereits bei den Versuchen vom 16. 4. keimen die Samen der hl·hl schneller als diejenigen der I·I. Aber der Unterschied ist noch gering (Abb. 12b). So ist es auch bei den folgenden Versuchen bis zu den am 11. 6. angesetzten. Von da an haben die hl·hl-Samen etwas besser gekeimt als die I·I-Samen (Abb. 10), nunmehr auch viel schneller

(Abb. 12c). In jedem Fall haben die Samen der hsc·hsc langsamer gekeimt als die beiden anderen, besonders in den Versuchen vom 25. 6. mit der schlechten Keimung. Bemerkenswert ist nun, daß die I·I-Samen in allen Versuchen etwa gleich schnell gekeimt haben. So ist es auch bei den Samen der hsc·hsc mit Ausnahme der Versuche vom 25. 6. Bei den hl·hl-Samen ist das anders. Bis zu den Versuchen vom 10. 9. keimen sie zunehmend schneller; von da an ist kaum noch eine Beschleunigung festzustellen. Daher kommt es, daß die hl·hl-Samen, die

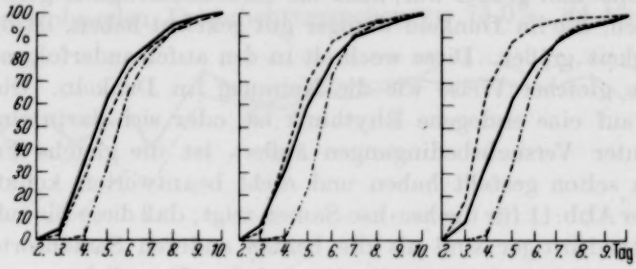


Abb. 12a. Keimverlauf bei den Dauerlichtversuchen vom 30. 1. 56.

——— I·I 691 gek. Sa. (86,8 %)
---------- hl·hl 445 gek. Sa. (57,3 %)
—·—·— hsc·hsc 140 gek. Sa. (16,8 %)

Abb. 12b. Dauerlichtversuche vom 16. 4. 56
——— I·I 591 gek. Sa. (85,8 %)
---------- hl·hl 457 gek. Sa. (81,8 %)
—·—·— hsc·hsc 404 gek. Sa. (53,4 %)

Abb. 12c. Dauerlichtversuche vom 24. 9. 56.
——— I·I 843 gek. Sa. (87,0 %)
---------- hl·hl 596 gek. Sa. (94,6 %)
—·—·— hsc·hsc 496 gek. Sa. (48,0 %)

erst langsamer keimten als die I·I-Samen, hernach schneller keimen als diese, und der anfänglich geringe Unterschied bis zu den Versuchen vom 10. 9. immer größer wird. Das Altern der hl·hl-Samen wirkt sich in einer Beschleunigung des Keimverlaufes aus, nicht aber bei den beiden anderen Samensorten.

Bei den drei 2×10 Std-Versuchen vom 30. 1.—27. 2. keimten die Samen der hl·hl eindeutig schneller als die Samen der I·I (Abb. 13a), obwohl erstere schlechter gekeimt hatten als letztere (Abb. 6) und zu dieser Zeit noch viel lichtbedürftiger waren (Abb. 11). Es ist also nicht so, daß die lichtbedürftigeren Samen auch immer langsamer keimen. Auffallenderweise keimten dann bei den Versuchen vom 12. 3. die hl·hl- und I·I-Samen gleich schnell, und bei den Versuchen vom 4. 4. hatten sogar die I·I-Samen schneller gekeimt. Diese auffallende Verschiebung kam dadurch zustande, daß der Keimverlauf bei den hl·hl-Samen erheblich verlangsamt wurde, nicht oder nur geringfügig bei den I·I-Samen. Bei allen Versuchen vom 16. 4. an bis zu den letzten vom 3. 12. keimten dann wieder die Samen der hl·hl schneller als die I·I-Samen (Abb. 13b). Der Unterschied wird dann größer (Abb. 13c), weil bis zu

den Versuchen vom 5. 11. bei den hl·hl-Samen der Keimverlauf beschleunigt wird. Bei den I·I-Samen ist die Beschleunigung geringer und setzt auch später ein. Die hsc·hsc-Samen hatten zu schlecht gekeimt und fielen deshalb für den Vergleich aus.

Vergleicht man die beiden Versuchsreihen, so stellt man überrascht fest, daß bei den Optimalversuchen die Samen nicht viel schneller keimen als bei den 2 × 10 Std-Versuchen. Bei den hl·hl-Samen ist der

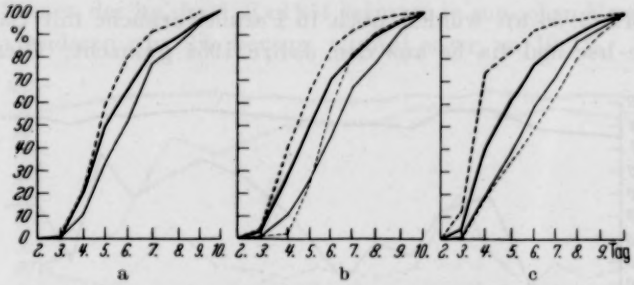


Abb. 13a. Keimverlauf bei den Versuchen vom 27. 2. 56.

2 × 10 Std	———	I·I	518 gek. Sa. (63,8 %)
	----------	hl·hl	216 gek. Sa. (26,0 %)
Dunkel	———	I·I	225 gek. Sa. (26,2 %)
	---------	hl·hl	— gek. Sa. (—)

Abb. 13b. Versuche vom 28. 5. 56

2 × 10 Std	———	I·I	583 gek. Sa. (72,5 %)
	----------	hl.hl	482 gek. Sa. (70,8 %)
Dunkel	———	I·I	281 gek. Sa. (38,0 %)
	---------	hl·hl	332 gek. Sa. (52,4 %)

Abb. 13c. Versuche vom 19. 11. 56.

2 × 10 Std	———	I·I	478 gek. Sa. (81,2 %)
	----------	hl·hl	429 gek. Sa. (86,8 %)
Dunkel	———	I·I	353 gek. Sa. (60,4 %)
	---------	hl·hl	204 gek. Sa. (55,4 %)

Unterschied sehr gering oder überhaupt nicht vorhanden, vor allem in den letzten Versuchen. Die I·I-Samen keimen in den Optimalversuchen zumeist etwas schneller; aber groß ist der Unterschied auch nicht.

Uneinheitlich sind die Befunde bei den Dunkelversuchen. In jedem Fall keimten die Samen langsamer als bei den 2 × 10 Std-Versuchen. Ein Vergleich der Keimung der I·I- und hl·hl-Samen ist erst von den Versuchen vom 16. 4. an möglich. Bei diesen hatten die letzteren eindeutig schneller gekeimt. In den folgenden 3 Versuchen ist bei beiden Samensorten die Keimung verlangsamt. Die anfänglich zögernd keimenden hl·hl-Samen überholen dann die I·I-Samen am 7. oder am 6. Tag (Abb. 13b). Bei den 3 Versuchen vom 25. 6.—6. 8. keimen dann wieder die I·I-Samen schneller. Bei 6 Versuchen vom 20. 8.—5. 11. haben wir dann wieder die Kurvenüberschneidung der Abb. 13b, die am 6.—8. Tag erfolgt, zuletzt dreimal bereits am 5. Tag. In den Versuchen vom 19. 11.—3. 12. keimen dann wieder die I·I-Samen schneller. Irgendeine

Beziehung zu der Gesamtkeimung oder zu der Lichtbedürftigkeit der Samen ist nicht erkennbar. So kann der wechselnde Keimverlauf bei den Dunkelversuchen nicht erklärt werden. Aber immerhin haben auch sie wie die anderen Versuchsreihen gezeigt, wie sehr die genetische Konstitution der Embryonen in den Samen auch den Keimverlauf bestimmt.

5. Versuche mit Samen der Ernte 1954

Vom 12. 3. 56 an wurden noch 16 Parallelversuche mit Samen der hl·hl, hsc·hsc und ha·ha aus dem Jahre 1954 gemacht. Diese waren

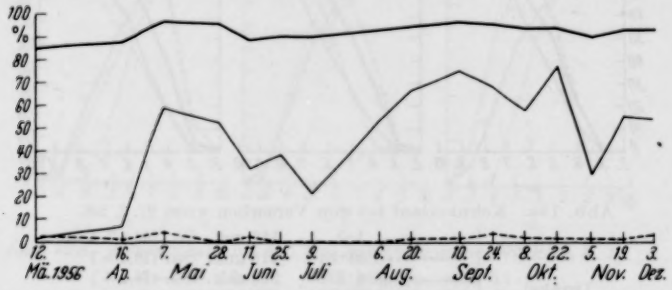


Abb. 14. Dunkelversuche mit Samen der Jahre 1954 und 1955.
——— hl·hl Ernte 1954
——— hl·hl Ernte 1955
--------- hsc·hsc Ernte 1954

also etwa 1 Jahr älter als die Samen bei den bisher besprochenen Versuchen. Um beide miteinander vergleichen zu können, sind die Kurven mit den Keimprozenten zusammengezeichnet. Leider standen von der I·I keine Samen zur Verfügung.

Bei den Dunkelversuchen keimten die Samen der hl·hl aus dem Jahre 1954 zu 85,2—97,2%, also, wie Abb. 14 zeigt, wesentlich besser als diejenigen der Ernte 1955. Die Lichtbedürftigkeit hat bei den um 1 Jahr älteren Samen erheblich abgenommen. Auffallend ist, daß die Schwankungen, die bei den Samen d. J. 1955 so stark sind, auch wieder bei den Samen d. J. 1954 auftreten, nur sehr viel weniger ausgeprägt und ausgeglichener. Die Samen der hsc·hsc d. J. 1954 haben überhaupt nicht oder nur zu wenigen Prozent gekeimt. Immerhin zeigt die geringe Keimung, daß auch bei ihnen, wenn auch ganz geringfügig, die Lichtbedürftigkeit abgenommen hat, denn die Samen d. J. 1955 haben überhaupt nicht gekeimt, ebenso nicht diejenigen der ha·ha aus beiden Ernten.

Bei den 2×10 Std-Versuchen haben die hl·hl-Samen d. J. 1954 durchweg besser gekeimt als die Samen d. J. 1955 (Abb. 15). Aber wenn letztere nachgereift sind (Versuche vom 20. 8. 56), wozu sie immerhin 1 Jahr brauchen, sind die Unterschiede nicht mehr groß. Übrigens

wird auch noch bei den Samen d. J. 1954 die Keimung durch Licht etwas gefördert (vgl. Abb. 14 und 15).

Die Samen der hsc·hsc d. J. 1954 keimten viel besser als bei den Dunkelversuchen, aber nur einmal bei den Versuchen vom 10. 9. mit 52,9% etwas mehr als halb so gut wie die gleich alten Samen der hl·hl. Die hsc·hsc behalten also ihre Lichtbedürftigkeit viel länger. Deshalb keimten unter diesen Versuchsbedingungen die Samen der Ernte 1955 bis zuletzt sehr schlecht.

Die Samen der ha·ha d. J. 1954 keimten in manchen Versuchen gar nicht, in anderen um 3% herum, einmal sogar zu 10,3%. Da sie er-

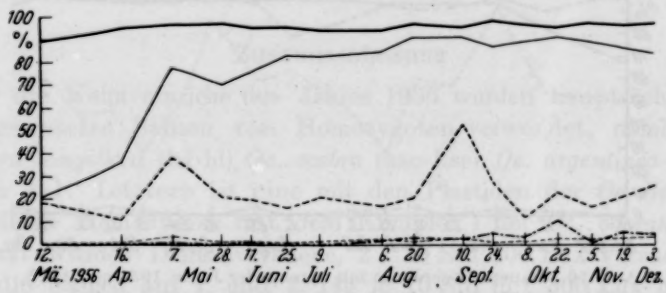


Abb. 15. 2 × 10 Std 300 Lux-Versuche mit Samen der Jahre 1954 und 1955.

hl·hl Ernte 1954
hl·hl Ernte 1955
hsc·hsc Ernte 1954
hsc·hsc Ernte 1955
ha·ha Ernte 1954

fahrungsgemäß lange im Keimbett liegen mußten, um dann endlich zu keimen, ist anzunehmen, daß die Keimung gut gewesen wäre, wenn man die Samen vom 10. Versuchstag an am Fenster hätte nachkeimen lassen. Die Samen d. J. 1955 keimten überhaupt nicht, und seitdem sind die ha·ha-Samen nur schwer zum Keimen zu bringen. Die Samen d. J. 1954 hatten sich demzufolge noch so verhalten, wie man es in früheren Jahren gewohnt war. Seitdem müssen bei den ha·ha-Samen irgendwelche Veränderungen eingetreten sein, die die Samen überhaupt nicht oder nur schwer zum Keimen kommen lassen.

Vergleichen wir nun die Kurve für die hsc·hsc-Samen d. J. 1954 bei den 2 × 10 Std-Versuchen (Abb. 15) mit derjenigen für die hl·hl-Samen d. J. 1955 bei den Dunkelversuchen (Abb. 14), so ist man über die Übereinstimmung überrascht. Beidemal haben wir bei den Versuchen vom 7. 5. und 10. 9. eine gute Keimung. Selbst die Zacke im Kurvenverlauf bei den hl·hl-Samen am 22. 10. hat bei den hsc·hsc-Samen ihre Entsprechung. Nur das Minimum bei den Versuchen vom 9. 7. mit hl·hl-Samen ist bei den hsc·hsc-Samen auf den 25. 6. gewissermaßen vorverlegt. Auch sonst sind noch kleine Abweichungen vorhanden, die nicht weiter ins Gewicht fallen.

Nun zu den Dauerlichtversuchen (Abb. 16). Die Samen der hl·hl d. J. 1954 keimten zu 95,0—98,7%, also sehr gut, und zwar in allen Versuchen. Die Keimung der Samen aus d. J. 1955 war bei den ersten beiden Versuchen noch etwas schlechter. Die Samen waren noch nicht voll nachgereift. Von da an sind nur noch geringe Unterschiede gegenüber den Samen d. J. 1954 vorhanden, die möglicherweise durch die unterschiedlichen Reifebedingungen veranlaßt sein können.

Die hsc·hsc-Samen d. J. 1954 keimten jetzt recht gut; die geringen Schwankungen fallen aber doch auf. Sie stimmen mit denjenigen bei

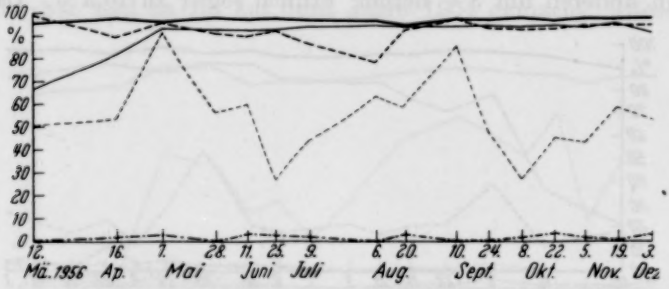


Abb. 16. Dauerlichtversuche mit Samen der Jahre 1954 und 1955.

hl·hl Ernte 1954
hl·hl Ernte 1955
hsc·hsc Ernte 1954
hsc·hsc Ernte 1955
ha·ha Ernte 1954

den 2 × 10 Std-Versuchen insofern überein, als beidemal die Samen bei den Versuchen vom 7. 5. und 10. 9. sehr gut, in denjenigen vom 6. 8. relativ schlecht keimten. Die hsc·hsc-Samen d.J. 1955 haben, wie Abb. 16 zeigt, zumeist viel schlechter gekeimt. Die Schwankungen sind dabei groß und stimmen mit denjenigen, die wir bei den 2 × 10 Std-Versuchen mit Samen d. J. 1954 gefunden haben, weitgehend überein (Abb. 14). Das braucht nicht im einzelnen besprochen zu werden. Man sieht auch so, wo der Kurvenverlauf geringfügig differiert. Wir stellen fest, daß die hsc·hsc-Samen d. J. 1954 bei den 2 × 10 Std-Versuchen fast die gleichen Schwankungen zeigen wie diejenigen aus d. J. 1955 bei den Dauerlichtversuchen (vgl. Abb. 15 und 16). Man könnte nun den Schluß ziehen, daß diese Übereinstimmung auf eine endogene Rhythmik hinweist, die in gleicher Weise bei den hl·hl-Samen d. J. 1955 bei den Dunkelversuchen (Abb. 14) zu beobachten ist. Aber er ist unzulässig, weil die Versuche mit den Samen der beiden Ernten alle gleichzeitig im Jahre 1956 gemacht wurden. Ebensogut ist es möglich, wie an verschiedenen Stellen schon angegeben, daß unbekannte und nicht kontrollierbare Außeneinflüsse die Schwankungen in der Keimung verursachen, die deshalb übereinstimmen.

Die ha·ha-Samen d. J. 1954 haben im Dauerlicht nur wenig oder gar nicht gekeimt. Die Versuchsdauer von 10 Tagen war zu kurz. Die Samen der Ernte 1955 keimten überhaupt nicht.

Wenn wir von den bereits oben besprochenen Schwankungen in der Keimung absehen, so haben die Vergleichsversuche mit Samen der hl·hl und hsc·hsc aus den Jahren 1954 und 1955 ergeben, daß deren Lichtbedürftigkeit mit zunehmendem Samenalter immer mehr abnimmt. In welchem Ausmaß das aber geschieht, hängt von der genetischen Konstitution der Embryonen in den Samen ab. Diese ist auch dafür verantwortlich zu machen, ob die Samen schnell oder langsam nachreifen.

Zusammenfassung

Für die Keimversuche des Jahres 1956 wurden hauptsächlich die 1955 geernteten Samen von Homozygoten verwendet, nämlich der *Oenothera longiflora* (hl·hl), *Oe. scabra* (hsc·hsc), *Oe. argentinea* (ha·ha) und der I·I. Letztere ist eine mit den Plastiden der *Oe. Berteriana* lebensfähige Homozygote mit dem Komplex I der *Oe. odorata* (v·I). Angesetzt wurden Dunkelversuche, 2 × 10 Std 300 Lux-Versuche, bei denen die Samen am 1. und 2. Tag je 10 Std mit 300 Lux belichtet wurden, und Dauerlichtversuche. Die Samen der *Oe. argentinea* keimten überhaupt nicht und fielen für den Vergleich aus. Die Samen der *Oe. scabra* sind obligate Lichtkeimer. Die Samen der *Oe. longiflora* und I·I keimen schon im Dunkeln; aber durch Licht wird ihre Keimung erhöht.

Die Lichtbedürftigkeit ist anfänglich bei den langsamer keimenden, nachreifenden Samen der *Oe. longiflora* größer als bei denjenigen der I·I. Bei den älter gewordenen Samen, bei denen ganz allgemein die Lichtbedürftigkeit abnimmt, ist es umgekehrt. Bei den Samen der *Oe. scabra* bleibt die starke Lichtbedürftigkeit bis zuletzt erhalten. Auffallend sind die mehrfachen Schwankungen der Keimung und auch der Lichtbedürftigkeit, die bei den 3 Samensorten weitgehend übereinstimmen. Sie könnten auf das Vorhandensein einer endogenen Rhythmik hinweisen, die dann allerdings bei den 3 Samensorten mit ihren genetisch so verschieden konstituierten Embryonen gleicherweise ablaufen würde. Es ist aber auch möglich, daß die Schwankungen durch wechselnde unbekannte und deshalb nicht kontrollierbare Versuchsbedingungen verursacht sind. Auch der Keimverlauf und dessen Änderung in Abhängigkeit vom Alter der Samen hängt gleich wie die Keimung von der genetischen Konstitution der Embryonen in diesen ab. Parallelversuche mit Samen der hl·hl, hsc·hsc und ha·ha aus dem Jahre 1954 zeigen, daß auch bei den Samen der hsc·hsc die Lichtbedürftigkeit abgenommen hat. Auffallend sind wieder bei ihnen die großen Schwankungen, die bei

den in jedem Fall gut keimenden Samen der hl·hl auch noch erkennbar sind. Die Samen der ha·ha keimten nur schlecht. Ihr Verhalten bei der Keimung bleibt nach wie vor rätselhaft.

Literatur

Bünning, E.: Zur Physiologie der endogenen Jahresrhythmik in Pflanzen, speziell in Samen. Z. Naturforsch. **4b**, 167—176 (1949).

—, u. L. Müssle: Der Verlauf der endogenen Jahresrhythmik in Samen unter dem Einfluß verschiedenartiger Außenfaktoren. Z. Naturforsch. **6b**, 108—112 (1951).

Schlenk-Barnsdorf, M. v.: Analyse der *Oenothera scabra*. Diss. Erlangen 1951.

Schwemmle, J.: Keimversuche auf genetischer Grundlage. I. Die Lichtabhängigkeit. Planta (Berl.) **54**, 294—313 (1960).

— Keimversuche auf genetischer Grundlage. II. Genetische Konstitution und Keimverlauf. Flora (Jena) (im Druck).

— und Mitarb.: Genetische und zytologische Untersuchungen an Eu-Oenotheren. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **75**, 358—800 (1938).

—, u. M. Zintl: Genetische und zytologische Untersuchungen an Eu-Oenotheren. Die Analyse der *Oenothera argentinea*. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **76**, 353—410 (1939).

Prof. Dr. J. Schwemmle,
Botanisches Institut der Universität
Erlangen

Planta 56, 377—387 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen

KEIMVERSUCHE AUF GENETISCHER GRUNDLAGE
VI. DER EINFLUSS DER UNTERLAGE AUF DIE KEIMUNG VON SAMEN DER AUFGEPFROPFTEN REISER

Von

J. SCHWEMMLE und H. GROSS

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. November 1960)

Durch Keimversuche mit Samen aus dafür geeigneten Kreuzungen hat gezeigt werden können, daß der Komplex *l* der *Oenothera Berteriana* (B · *l*), der starke Luftbedürftigkeit der Samen und einen langsamen Keimverlauf bedingt, in den Kernen der Eizellen diese entsprechend prädeterminiert. Man konnte annehmen, daß von den Kernen mit dem *l*-Komplex irgendwelche Stoffe — nennen wir sie *l*-Stoffe — ins Plasma der Eizelle ausgeschieden werden. Das wird nun ganz allgemein der Fall sein, auch bei den Zellen von Diplonten. Je nach ihrer genetischen Konstitution werden die von den Kernen ausgeschiedenen Stoffe verschieden sein. Dann ist es aber möglich, daß Samen von aufgepfropften Reisern unter dem Einfluß der Unterlage anders keimen als diejenigen von Kontrollpflanzen. Voraussetzung ist natürlich, daß die Samen der Arten, die als Unterlagen und Reiser verwendet werden, bei den gleichen Versuchsbedingungen sehr verschieden keimen. Auf Grund dieser Überlegungen wurden die Untersuchungen durchgeführt, über die nachfolgend berichtet wird. Auch sie wurden durch die von der Deutschen Forschungsgemeinschaft bewilligten Mittel ermöglicht. Dafür sei auch an dieser Stelle herzlich gedankt.

I. Material und Methode

Folgende Arten wurden verwendet:

Oenothera odorata (v·I); sie ist eine isogame Komplexheterozygote mit den Komplexen v und I. Ihre Samen keimen schon im Dunkeln, noch besser nach kurzer Belichtung.

Oe. campylocalyx (ck·cl); sie ist eine halbheterogame Komplexheterozygote mit den Komplexen ck·cl (RÜHL 1952). Ihre Samen sind sehr lichtbedürftig. Sie keimen im Dunkeln oder nach kurzer Belichtung sehr schlecht oder überhaupt nicht.

Oe. argentinea (ha·ha). Die Samen dieser Homozygote (SCHWEMMLE und ZINTL 1939) sind kaum zum Keimen zu bringen. Sie liegen auch belichtet wochenlang im Keimbett, ohne zu schimmeln, um dann zögernd und launenhaft zu keimen.

Pfropfungen mit der *Oe. Berteriana*, deren Samen sehr lichtbedürftig sind, gelingen fast nicht. Deshalb wurde diese Art nicht mit einbezogen. Die Methode des Pfropfens ist bei GROSS beschrieben (1959, S. 11). Sie bewährte sich auch wieder bei den Pfropfungen im Sommer 1959. Als Propfreiser wurden möglichst junge

Triebe verwendet. Auch die Unterlage durfte nicht zu alt sein, sonst gelang die Pfropfung nicht. Das Wachstum der Reiser war bei gelungenen Pfropfungen normal. Weder die Unterlagen noch die Reiser wurden zurückgeschnitten. Vielleicht wäre es gut gewesen, das bei den Reisern zu tun, damit sie fast nur von der Unterlage versorgt wurden, deren Einfluß wir ja prüfen wollen. Wieviel Pfropfungen jeweils gemacht wurden und wieviel davon gelangen, wird soweit notwendig an verschiedenen Stellen angegeben. $\frac{ck \cdot cl}{v \cdot I}$ bedeutet, daß Reiser der *Oe. campylocalyx* auf *Oe. odorata* als Unterlagen, $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$, daß Reiser der *Oe. odorata* auf *Oe. odorata* als Unterlagen gepfropft wurden; denn es war ja auch zu prüfen, ob nicht schon die Pfropfung als solche die Samenkeimung verändert. Steht nur v·I da, so stammen die Samen aus Selbstungen von Kontrollpflanzen. Sobald die Reiser zum Blühen kamen, wurde geselbstet, ebenso bei den normalen Kontrollpflanzen. Es wurde dafür gesorgt, daß für die Versuche jeweils einer Versuchsgruppe nur Samen aus gleichzeitig gemachten Selbstungen verwendet wurden, denn das Samenalter wirkt sich ja auf die Keimung stark aus. Bemerkenswert ist, daß die Kapseln der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ so schnell reif wurden wie diejenigen der Kontrollpflanzen. Die Schalen mit den Samen — etwa 200—300 bei jedem Versuch — standen in einem Thermostaten (24,5° C), der von oben belichtet werden konnte. Die Keimlinge wurden jeden Tag im Licht einer Cadmiumlampe ausgezählt, so daß, wenn genügend Samen insgesamt gekeimt hatten, auch der Keimverlauf erfaßt werden konnte. Nach 10 Tagen waren die Versuche abgeschlossen. Die Schalen mit den bis dahin nicht gekeimten Samen wurden vor einem Westfenster im Laboratorium aufgestellt. Durch diese sog. Nachkeimung soll die maximal mögliche Keimung erfaßt werden. Wie lange bei den Versuchen belichtet wurde, ist bei den einzelnen Versuchsgruppen angegeben, ebenso wieviele Versuche es waren und in welchem Zeitraum sie angesetzt wurden. Das Datum bei einem Versuch, bei den Abbildungen angegeben, bedeutet, daß an diesem Tag kurz vor 8 Uhr die Samen in den Schalen angefeuchtet und diese dann in den Thermostaten gestellt wurden.

II. Die Versuche

a) Die Keimung der Samen von $v \cdot I$, $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$, $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$, $ck \cdot cl$

Bei den 5 Versuchen vom 12. 1.—15. 2. 60 waren die Samen am 2. Tag von 8—18 Uhr, also 10 Std, mit 300 Lux belichtet worden. Wie sie keimten zeigt Abb. 1. Bei dieser, ursprünglich auf Millimeterpapier gezeichnet, betrug der Abstand zwischen den Versuchen soviel Millimeter, als Tage zwischen den Versuchen lagen.

Die Samen der v · I keimten zu 54,7—71,1% recht gut. Auch hier haben wir wieder die nicht erklärbaren Schwankungen. Die Samen der ck · cl keimten bei diesen Versuchsbedingungen gar nicht oder zu nur 1% bei dem am 12. 1. angesetzten Versuch. Daß die Pfropfung allein schon die Keimung beeinflußt, zeigen die Versuche mit Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$. Bei 2 Versuchen war die Keimung merklich schlechter, bei 3 Versuchen geringfügig besser als bei der v · I. Die Samen der $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$ keimten in jedem Fall schlechter als die anderen Samen, sicher unter dem Einfluß der

Unterlage ck · cl, deren Samen ja nicht keimten. Einen solchen wird man auch darin erkennen können, daß die Kapseln der $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$ gleich wie diejenigen der ck · cl etwas langsamer reifen. Bei denjenigen der v · I und $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ ist kein Unterschied vorhanden. Bemerkenswert ist noch die Übereinstimmung im Kurvenverlauf für die 4 Samensorten.

Bei den am 22. 2. 60 angesetzten Versuchen wurden die Samen nur 4 Std belichtet. Auffallenderweise keimten sie nicht schlechter als in den Versuchen zuvor. Wieder war die Keimung der Samen von $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ schlechter als derjenigen von v · I, noch geringer bei den Samen von $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$.

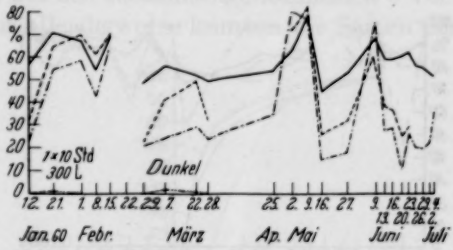


Abb. 1. Die Keimung in den 1×10 Std- und Dunkelversuchen.
——— v · I
— — — — $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$
— · — · — $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$
— ·· — ·· — ck · cl.
Bei den Versuchen vom 22. 2. wurde nur 4 Std belichtet

Vom 29. 2.—4. 7. 60 wurden je 18 Dunkelversuche angesetzt, da bei solchen möglicherweise die Unterschiede noch deutlicher zu erkennen waren. Nur die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ reichten zu so vielen Versuchen nicht aus. Sehen wir zunächst von den beiden Versuchen vom 2. und 9. 5. ab, so entnehmen wir der Abb. 1, daß bei 11 Vergleichsversuchen die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ schlechter keimten als diejenigen der v · I. Bei 3 von den 6 vorbesprochenen Versuchen war das auch gefunden worden. Demnach keimen die Samen von $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ im allgemeinen schlechter als diejenigen der Kontrollpflanzen. Die Pfropfung allein schon bewirkt eine Herabsetzung der Keimung. Wodurch das bedingt ist, ist unbekannt Noch schlechter ist die Keimung bei 10 Vergleichsversuchen mit den Samen der $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$. Die Befunde der vorbesprochenen 6 Versuche sind damit bestätigt. Dadurch ist sichergestellt, daß die Unterlage ck · cl, deren Samen gar nicht oder ganz schlecht keimen, die Keimung der Samen von aufgepfropften Reisern der v · I herabsetzt. Bei den am 9. 6. angesetzten Versuchen war allerdings davon nichts zu merken. Ein Grund dafür kann nicht angegeben werden, ebensowenig für das Ansteigen der Keimung. Nun zu den zunächst ausgelassenen Versuchen vom 2. und 9. 5., bei denen die Keimung auffallend gut war und die Unterschiede in der Keimung der verschiedenen Samen nicht vorhanden sind. Bei diesen waren die Samen im Gegensatz zu den anderen Versuchen stark verschimmelt, so daß diese

beiden Versuche eigentlich gar nicht zu verwerten sind. Aber immerhin zeigen sie, wie sich ein Befall von Pilzen auswirken kann.

Die Nachkeimung zeigt Abb. 2. Aus ihr ist zu entnehmen, daß die Samen der ck · cl im allgemeinen besser gekeimt haben als die anderen. Es fällt auf, daß bei den am 21. 1. und 25. 4. angesetzten Versuchen aus unbekannten Ursachen die Keimung auf 45,6 und 53,5% absank. Schwankungen haben wir auch bei der Nachkeimung der verschiedenen v · I-Samen, die z. T. recht verschieden gekeimt haben, ohne daß aber die Unterschiede, die für die eigentlichen Versuche gefunden wurden, erkennbar wären.

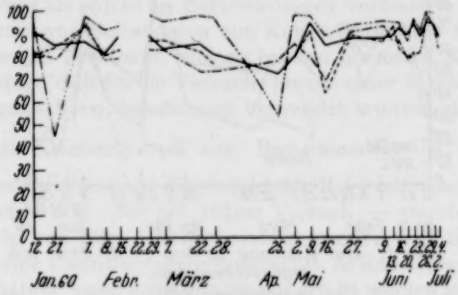


Abb. 2. Die Nachkeimung der 1 × 10 Std- und Dunkelversuche.

———— $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$

– – – – $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$

– · – · – $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$

—··—·· ck · cl.

Bei den Versuchen vom 22. 2. wurde nur 4 Std belichtet

Wenn wir die Keimprozente bei den Versuchen auf die Prozentsätze der Nachkeimung gleich 100 beziehen, bekommen wir, wie an anderer Stelle ausgeführt, die Werte für die Lichtbedürftigkeit der Samen. Die daraufhin gezeichneten Kurven der hier nicht verwendeten Abbildung zeigen einen ähnlichen Verlauf wie diejenigen der Abb. 1. Offensichtlich keimen die Samen der aufgepfropften Reiser der v · I nicht deshalb schlechter, weil sie weniger keimfähig waren, sondern weil die Lichtbedürftigkeit der Samen dadurch verändert wurde. Da die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ nicht für alle Parallelversuche reichten und die beiden vom 2. 5. und 9. 5. wegen der starken Verpilzung nicht zu verwerten sind, können wir je 17 Versuche miteinander vergleichen. In 14 Versuchen waren die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ lichtbedürftiger als diejenigen der v · I, bei 1 Versuch (vom 22. 3.) war kein Unterschied vorhanden und bei 2 Versuchen (vom 8. 2. und 25. 2.) waren die Samen der v · I lichtbedürftiger als diejenigen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$. Im allgemeinen erhöht also die Pfropfung allein schon die Lichtbedürftigkeit der v · I-Samen. Dieser Befund war nicht zu erwarten, wohl aber, daß die Samen der $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$ lichtbedürftiger sind als diejenigen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$, denn die Samen der als Unterlage verwendeten ck · cl sind ja besonders lichtbedürftig. Bei 16 von 17 Versuchen wurde das gefunden.

Nur der Versuch vom 9. 6. fällt heraus. Der Wert für die Samen der $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$ (81,1 %) ist größer als derjenige für die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ (68,9 %). In diesem Fall sind die ersteren weniger lichtbedürftig als die letzteren. Trotz dieser einen Ausnahme können wir mit Sicherheit feststellen, daß die als Unterlage verwendete ck · cl, deren Samen besonders lichtbedürftig sind, die Lichtbedürftigkeit der Samen von aufgepfropften v · I-Reisern erhöht.

Abb. 3 zeigt den Keimverlauf bei den zusammengenommenen 5 Versuchen vom 12. 1.—15. 2. 60. Auffallenderweise keimten die Samen der

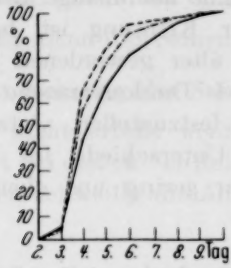


Abb. 3. Der Keimverlauf bei den 1 × 10 Std-Versuchen. (Durchschnittswerte der 5 Versuche vom 12. 1.—15. 2. 60).

———— $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ 870 gek. Sa. 63,8 %

— — — — $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ 805 gek. Sa. 59,4 %

— · — · — $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$ 635 gek. Sa. 48,5 %

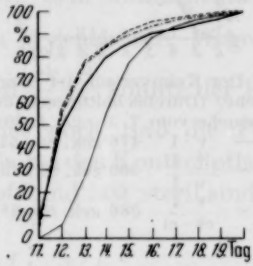


Abb. 4. Der Keimverlauf in der Nachkeimung der 1 × 10 Std-Versuche. (Durchschnittswerte der 5 Versuche vom 12. 1.—15. 2. 60).

———— $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ 306 gek. Sa. 86,9 %

— — — — $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ 339 gek. Sa. 84,7 %

— · — · — $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$ 450 gek. Sa. 83,0 %

— ·· — ·· — ck · cl 833 gek. Sa. 85,6 %

$\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ schneller als diejenigen der v · I, obwohl sie doch zumeist lichtbedürftiger waren. Es ist also nicht so, daß die lichtbedürftigeren Samen immer auch langsamer keimen. Selbst die Samen der $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$ keimen noch schneller als diejenigen der v · I, aber etwas langsamer als die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$, worin wir einen Einfluß der Unterlage erkennen; denn wie die Abb. 4 für den Kurvenverlauf bei der Nachkeimung zeigt, keimen die Samen der ck · cl viel langsamer als die anderen. Die Unterschiede zwischen den 3 verschiedenen v · I-Samen sind auch jetzt noch vorhanden, wenn schon der Unterschied zwischen den $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$- und $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$-Samen nur noch angedeutet ist.

Bei den 4 Dunkelversuchen vom 7. 3.—25. 4. ist der Keimverlauf gegenüber den je 5 Versuchen der Abb. 3 verlangsamt (Abb. 5). Wieder keimen die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ schneller als diejenigen der v · I, obwohl

das durchschnittliche Keimprozent von 52,9 auf 36,4% absank. Die Samen der $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$ keimten unter dem Einfluß der Unterlage wieder langsamer. Aber zwischen dem Keimverlauf der $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$-Samen und demjenigen der v · I-Samen ist jetzt kein Unterschied mehr vorhanden. So ist es auch bei den 2 Dunkelversuchen vom 16. und 27. 5. Nur haben alle Samen gegenüber den Versuchen der Abb. 5 etwas schneller gekeimt. Eine nochmalige Beschleunigung der Keimung ist bei den inzwischen älter gewordenen Samen für die 4 Dunkelversuche vom 15.—23. 6. festzustellen. Jetzt sind aber die Unterschiede im Keimverlauf sehr gering und eben noch erkennbar.

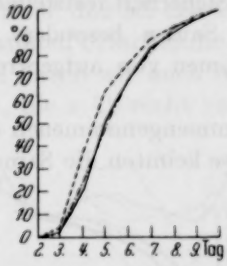


Abb. 5. Der Keimverlauf der Dunkelversuche. (Durchschnittswerte der 4 Versuche vom 7. 3.—25. 4. 60).

——— v · I 476 gek. Sa. 52,9 %
— — — — $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ 300 gek. Sa. 36,4 %
— · — · — $\frac{v \cdot I}{ck \cdot cl}$ 286 gek. Sa. 28,3 %

b) Die Keimung der Samen von ck · cl, $\frac{ck \cdot cl}{v \cdot I}$ und v · I

Die $\frac{ck \cdot cl}{v \cdot I}$-Pfropfungen wuchsen schlecht an. Von 30 kamen nur 11 Reiser zum Blühen. Diese wuchsen auch so langsam, daß Selbstungen erst Ende August gemacht werden konnten. Nur wenige Kapseln reiften vor Einsetzen des Frostes. Deshalb reichten die Samen auch nur zu 2 Versuchen. Von den 18 $\frac{ck \cdot cl}{ck \cdot cl}$-Pfropfungen gingen nur 3 an. Die Reiser wuchsen aber nur sehr langsam. Blüten wurden keine mehr gebildet. Die Kapseln aus Selbstungen der Kontrollpflanzen wurden gleichzeitig mit denen der $\frac{ck \cdot cl}{v \cdot I}$-Pfropfungen geerntet. Die Samen sind also durchwegs gleich alt, was bei Keimversuchen sehr zu beachten ist. Sie wurden wegen der großen Lichtbedürftigkeit der ck · cl-Samen bei den Versuchen vom 1. 2. 60 3 × 10 Std, bei denjenigen vom 8. 2. 60 4 × 10 Std belichtet. Die Ergebnisse sind aus der Tabelle 1 zu entnehmen. Die Zahlen ohne Klammern sind die Keimprozente bis zum 10. Versuchstag. Die Keimprozente der am 20. Tag abgeschlossenen Nachkeimung stehen in Klammern.

Tabelle 1

	1. Februar 1960	8. Februar 1960
ck · cl	0,0% (87,6%)	0,4% (90,5%)
$\frac{ck \cdot cl}{v \cdot I}$	4,4% (78,1%)	8,8% (85,1%)
v · I	48,5% (73,5%)	52,1% (76,5%)

Vorweg sei gesagt, daß die auffallend niedrigen Keimprozente bei den v · I-Samen nicht verglichen werden können mit denjenigen der v · I bei den an den gleichen Tagen angesetzten Versuchen des vorigen Abschnittes, da die Samen verschieden alt waren. Die ck · cl-Samen keimten gar nicht oder nur zu 0,4%. Mit 4,4 und 8,8% war die Keimung bei den Samen der $\frac{ck \cdot cl}{v \cdot I}$ besser. Wir dürfen darin wohl einen Einfluß der v · I-Unterlage, deren Samen viel weniger lichtbedürftig sind als diejenigen der ck · cl, auf das ck · cl-Reis sehen. Allerdings fehlen die Versuche mit Samen der $\frac{ck \cdot cl}{ck \cdot cl}$. Es könnte sein, daß bei diesen schon die Lichtbedürftigkeit der Samen vermindert ist. Sehr wahrscheinlich ist das nicht, denn die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ keimten ja schlechter. Wegen der geringen Keimung der Samen der ck · cl und $\frac{ck \cdot cl}{v \cdot I}$ konnte der Keimverlauf nicht erfaßt werden. Aufgefallen ist noch, daß die Pollenfertilität bei den ck · cl-Reisern besser war als bei den Kontrollpflanzen, bei denen zeitweilig die Antheren geschrumpft und fast steril sind.

c) Die Keimung der Samen von v · I, $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$, $\frac{v \cdot I}{ha \cdot ha}$ und ha · ha

Die Samen der *Oe. argentinea* (ha · ha) keimten erfahrungsgemäß auch bei optimalen Versuchsbedingungen in den ersten 10 Tagen überhaupt nicht. Durch die $\frac{v \cdot I}{ha \cdot ha}$-Pfropfungen sollte geprüft werden, ob und wie die ha · ha-Unterlage sich auf die Keimung der Samen von v · I-Reisern auswirkt. Von den 28 gepfropften v · I-Reisern kamen nur 10 zum Blühen und so spät, daß die Selbstungen der 4 oben angegebenen Vergleichsformen erst Ende August gemacht werden konnten. Die Samen, die gleich alt waren und deren Keimung deshalb vergleichbar ist, reichten nur für 4 Versuche vom 1.—22. 2. 60 (Abb. 6). Sie wurden jeweils am 2. Versuchstag 10 Std mit 300 Lux belichtet. Die Samen der ha · ha keimten nicht, diejenigen der v · I zu 37,2—58,1%. Die Keimung war bei dem letzten Versuch vom 22. 2. am besten, weil die Samen älter geworden waren. Das ist ganz allgemein der Fall. Auffallenderweise keimten die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ bei den 3 Versuchen vom 1. 2.—15. 2. zu 52,8 bis 64,6%, also viel besser als die Samen der v · I. In diesem Fall hat also allein schon die Pfropfung eine bessere Keimung der v · I-Samen zur Folge. Bei dem Versuch vom 22. 2. war aber die Keimung gleich gut. Die Versuche mit $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$-Samen des ersten Abschnittes hatten aber ergeben, daß mit wenigen Ausnahmen diese schlechter keimten als die v · I-Samen (Abb. 1). Möglicherweise ist daran schuld, daß die Samen

verschieden alt waren. Es könnte sein, daß die $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$-Samen anfänglich besser, später aber, wenn sie älter geworden sind, schlechter keimen als die v · I-Samen Dafür spricht, daß bei den Versuchen vom 22. 2. kein Unterschied mehr vorhanden ist. Vielleicht hätten in weiteren Versuchen, zu denen leider die Samen nicht reichten, die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ auch schlechter gekeimt als diejenigen der v · I. Mit 8,0—16,9% war die Keimung bei den Samen der $\frac{v \cdot I}{ha \cdot ha}$ sehr viel schlechter als zuvor.

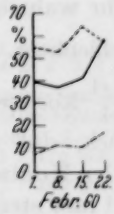


Abb. 6. Die Keimung in den 1 × 10 Std-Versuchen.

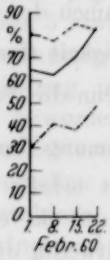


Abb. 7. Die Nachkeimung der 1 × 10 Std-Versuche.

——— $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$
– – – – $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$
— · — · — $\frac{v \cdot I}{ha \cdot ha}$

Die ha · ha-Unterlage hat sich also bei dem v · I-Reis sehr stark ausgewirkt.

Die Unterschiede bleiben, wie Abb. 7 zeigt, auffallenderweise auch bei der Nachkeimung erhalten. Das zögernde Keimen, wie wir es für die Samen der ha · ha kennen, zeigt sich jetzt, wenn auch viel weniger ausgesprochen, auch bei den $\frac{v \cdot I}{ha \cdot ha}$-Samen. Wegen der großen Unterschiede wurden hier in Abb. 8 die Kurven für die Lichtbedürftigkeit der Samen gezeichnet. Die Werte für diese wurden in der angegebenen Weise errechnet. Je höher sie sind, desto weniger lichtbedürftig sind die Samen und umgekehrt. Die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ sind als Folge der Pfropfung anfänglich weniger lichtbedürftig als diejenigen der v · I. Bei den Versuchen vom 22. 2. unterscheiden sie sich darin nicht mehr. Es muß offen gelassen werden, ob die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$, wenn sie älter geworden sind, dann stärker lichtbedürftig sind als diejenigen der v · I. Besonders lichtbedürftig sind die Samen der $\frac{v \cdot I}{ha \cdot ha}$. Das ist deshalb bemerkenswert, weil wegen der schlechten Keimung der Samen der ha · ha der Einfluß des Lichtes auf die Keimung bislang gar nicht erfaßt werden konnte.

Den Keimverlauf zeigt Abb. 9. Im Gegensatz zu den früheren Befunden (s. Abb. 3) keimen die Samen der $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ nicht schneller, sondern so wie diejenigen der v · I. Noch auffallender ist, daß die Keimung bei den so lichtbedürftigen Samen der $\frac{v \cdot I}{ha \cdot ha}$ besonders schnell verläuft. Allerdings hatten nur 87 Samen gekeimt.

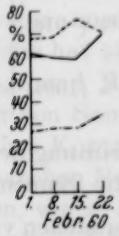


Abb. 8. Die Lichtbedürftigkeit der Samen bei der Keimung.
——— $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$
— — — $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$
— · — · — $\frac{v \cdot I}{ha \cdot ha}$

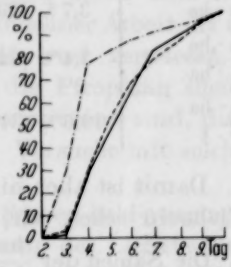


Abb. 9. Der Keimverlauf in den 1 × 10 Std-Versuchen. (Durchschnittswerte der 4 Versuche vom 1. 2.—22. 2. 60).
——— $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ 404 gek. Sa. 44,3 %
— — — $\frac{v \cdot I}{v \cdot I}$ 482 gek. Sa. 53,3 %
— · — · — $\frac{v \cdot I}{ha \cdot ha}$ 87 gek. Sa. 11,4 %

d) Die Keimung der Samen von ha · ha, $\frac{ha \cdot ha}{ha \cdot ha}$, $\frac{ha \cdot ha}{v \cdot I}$ und v · I

Die ha · ha-Reiser wuchsen auf der ha · ha-Unterlage gut an. 11 von 13 kamen zum Blühen. Weniger gut war die Ausbeute bei den $\frac{ha \cdot ha}{v \cdot I}$-Pfropfungen (12 von 18). Wie zu erwarten, keimten die Samen der ha · ha, $\frac{ha \cdot ha}{ha \cdot ha}$ und $\frac{ha \cdot ha}{v \cdot I}$ in den 10 Tage währenden 1 × 10 Std-Versuchen überhaupt nicht, auch nicht bei der Nachkeimung am Fenster vom 11.—20. Tag, die Samen der v · I dagegen zu 56,9 bzw. 91,5% bei den Versuchen vom 12. 1. 60. Da man ohnehin wußte, daß sie gut keimten, wurden mit diesen keine weiteren Versuche angesetzt. Um aber doch noch einen möglichen Einfluß der v · I-Unterlage auf die ha · ha-Reiser zu erfassen, blieben die Schalen am Fenster stehen und wurden laufend ausgezählt. Wie lange die Nachkeimung fortgesetzt wurde, ist aus der Tabelle 2 zu entnehmen, ebenso, wieviel Prozent der ausgelegten Samen (Zahlen in Klammern) gekeimt hatten.

Die Samen der ha · ha hatten bei den am 12. 1. und 16. 7. angesetzten Versuchen beim Abbrechen der Nachkeimung zu nur 3,7 und 6,7% gekeimt, obwohl sie dazwischen einen Kälteschock bekommen hatten. Auffallend gut war die Keimung bei dem am 9. 6. angesetzten Versuch mit 59,7%. Die Samen waren hier nicht mit Kälte behandelt

Tabelle 2

	Versuchsbeginn			
	12. Januar 1960	9. Juni 1960	16. Juli 1960	3. August 1960
Nachkeimung abgeschlossen nach ... Tagen	80	62	56	72
ha · ha	3,7% (297)	59,7% (310)	6,7% (1299)	27,1% (796)
$\frac{\text{ha} \cdot \text{ha}}{\text{ha} \cdot \text{ha}}$	3,4% (320)	38,1% (333)	2,3% (916)	
$\frac{\text{ha} \cdot \text{ha}}{\text{v} \cdot \text{I}}$	19,6% (317)	78,2% (312)	24,8% (1394)	40,5% (556)

worden. Damit ist aber nicht gesagt, daß die Keimung deshalb so gut war. Vielmehr sehen wir, wie unberechenbar die Samen der ha · ha keimen. Die Samen der $\frac{\text{ha} \cdot \text{ha}}{\text{ha} \cdot \text{ha}}$ hatten bei den Versuchen vom 9. 6. und 16. 7. schlechter gekeimt als die ha · ha-Samen, bei den Versuchen vom 12. 1. aber gleich gut. Trotzdem wird man sagen können, daß im allgemeinen die Pfropfung allein schon das Keimprozent erniedrigt, denn bei den $\frac{\text{v} \cdot \text{I}}{\text{v} \cdot \text{I}}$-Pfropfungen war das zumeist auch der Fall gewesen. Um so mehr werden wir die bessere Keimung der Samen von der $\frac{\text{ck} \cdot \text{cl}}{\text{v} \cdot \text{I}}$ (s. S. 382) mit einer Wirkung der v · I-Unterlage auf die ck · cl-Reiser erklären können. Das gleiche finden wir bei den $\frac{\text{ha} \cdot \text{ha}}{\text{v} \cdot \text{I}}$-Pfropfungen, denn mit 19,6, 78,2 und 24,8% hatten die Samen der ha · ha-Reiser sehr viel besser gekeimt als in den Vergleichsversuchen. So ist es auch bei den am 3. 8. 60 angesetzten Versuchen. Samen der $\frac{\text{ha} \cdot \text{ha}}{\text{ha} \cdot \text{ha}}$ standen leider nicht mehr zur Verfügung. Die Samen der ha · ha hatten zu 27,1% gekeimt, diejenigen der $\frac{\text{ha} \cdot \text{ha}}{\text{v} \cdot \text{I}}$ zu 40,5%, also unter dem Einfluß der Unterlage wieder besser.

Überblicken wir die Befunde der Versuche, so können wir ganz allgemein feststellen, daß die Keimung der Samen von aufgepfropften Reisern von der Unterlage in derem Sinne beeinflußt wird. Keimen die Samen der Form, die als Unterlage benutzt wird, besser als diejenigen der anderen Form, die als Reis verwendet wird, so wird bei diesen das Keimprozent erhöht $\left(\frac{\text{ck} \cdot \text{cl}}{\text{v} \cdot \text{I}}, \frac{\text{ha} \cdot \text{ha}}{\text{v} \cdot \text{I}}\right)$. Wenn aber die Samen der als Unterlage dienenden Form schlechter keimen als die Samen derjenigen Art, von der die Reiser stammen, so ist die Keimung der Samen erniedrigt $\left(\frac{\text{v} \cdot \text{I}}{\text{ck} \cdot \text{cl}}, \frac{\text{v} \cdot \text{I}}{\text{ha} \cdot \text{ha}}\right)$. Dabei ist es nicht so, daß die festgestellten Änderungen in der Keimung bei den Reisern dadurch zustande kommen, daß

die Keimfähigkeit der Samen, weil besser oder schlechter ernährt, als solche erhöht oder erniedrigt wird. Es ändert sich vielmehr die Lichtbedürftigkeit der Samen unter dem Einfluß der Unterlage. Damit sind weitere Beispiele für Partnerinduktion gefunden worden. Das ist um so bemerkenswerter, als ARNOLD bei seinen Pfropfungen ebenfalls mit Oenotheren aus der Raimannia-Gruppe eine solche nicht finden konnte. Offenbar eignen sich physiologische Untersuchungen besser zum Nachweis solcher Unterschiede. ARNOLD hat übrigens in seiner Arbeit die umfangreiche Literatur zusammengestellt. Darauf wird verwiesen. Überraschenderweise hat sich gezeigt, daß schon die Pfropfung allein, wenn also Unterlage und Reis genetisch gleich konstituiert sind, die Lichtbedürftigkeit von Samen der Reiser ändert. Versuche mit solchen sind die eigentlichen Kontrollversuche.

Da bei manchen Vergleichsversuchen die Samen bald ausgingen, und einige Fragen, wie z. B. die nach der Änderung der Lichtbedürftigkeit der Samen von v · I-Reisern auf v · I-Unterlagen in Abhängigkeit vom Samenalter, noch genauer untersucht werden müssen, werden die Untersuchungen in größerem Umfang noch einmal wiederholt, auch auf die Gefahr hin, daß neue Ergebnisse nicht gewonnen werden.

Zusammenfassung

Drei Arten von Oenotheren aus der Sektion Raimannia wurden wechselseitig gepfropft, nämlich *Oe. odorata*, *Oe. campylocalyx* und *Oe. argentinea*. Die Samen der genannten Formen keimen bei den gleichen Versuchsbedingungen sehr verschieden, weil sie verschieden lichtbedürftig sind. Ganz allgemein wurde gefunden, daß die Unterlage die Keimung von Samen der Reiser in ihrem Sinne beeinflußt. Damit sind neue Beispiele für Partnerinduktion gefunden worden.

Literatur

ARNOLD, C. G.: Untersuchungen über die gegenseitige Beeinflussung von Pfropfpartnern bei Oenotheren. Züchter **29**, 97—107 (1959).

GROSS, H.: Untersuchungen zum Problem der „vegetativen Annäherung" bei Oenotheren. Züchter **29**, 6—20 (1959).

RÜHL, F.: Die Anlage der *Oenothera campylocalyx*. Diss. Erlangen 1952.

SCHWEMMLE, J.: Keimversuche auf genetischer Grundlage. I. Die Lichtabhängigkeit. Planta (Berl.) **54**, 294—313 (1960).

— Keimversuche auf genetischer Grundlage. II. Genetische Konstitution und Keimverlauf. Flora (Jena) (im Druck).

— und Mitarb.: Genetische und cytologische Untersuchungen an Eu-Oenotheren. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **75**, 358—800 (1938).

—, u. M. ZINTL: Genetische und cytologische Untersuchungen an Eu-Oenotheren: Die Analyse der *Oenothera argentinea*. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **76**, 353—410 (1939).

Prof. Dr. J. SCHWEMMLE,
Botanisches Institut der Universität Erlangen

Planta 56, 388—401 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

CHLOROPLASTENBEWEGUNG BEI *MESOTAENIUM*

Von

WOLFGANG HAUPT und ROSMARIE THIELE

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 18. November 1960)

Einleitung

Der *Mougeotia*-Typ der Chloroplastenbewegung, nämlich die Drehung eines plattenförmigen Chloroplasten um seine Längsachse in der zylindrischen Zelle, ist nicht auf *Mougeotia* beschränkt (KWIATKOWSKY 1950). SENN (1908) rechnete damit, daß alle Conjugaten mit entsprechendem Zellbau diesen Bewegungstyp erkennen lassen. Das wäre auch für einzellige Formen wie *Mesotaenium* zu erwarten. Da für manche Untersuchungen Einzeller geeigneter sind als fadenförmige Algen, sollte geprüft werden, ob und in welchem Ausmaße sich die an *Mougeotia* gewonnenen Ergebnisse auf *Mesotaenium* übertragen lassen. Dabei zeigte sich tatsächlich in wesentlichen Punkten völlig gleiches Verhalten, doch traten auch gewisse interessante Abweichungen auf. Über die Ergebnisse dieser Versuche soll im folgenden berichtet werden.

Material und Methoden

Die für die Versuche verwendeten Sterilkulturen von *Mesotaenium caldarium* stammen aus der Algensammlung von Herrn Prof. PRINGSHEIM (Kultur-Nr. 648—1).

Nach 2—3wöchigem Wachstum auf Schrägagar werden Flüssigkeitskulturen angelegt (KNO_3 5 g, K_2HPO_4 0,1 g, $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ 0,05 g, Fe(NH_4)-Citrat (10 Tropfen einer 1%igen Lösung), Aqua bidest. ad 1000 ml], die nach 10—14 Tagen für die Versuche verwendet werden. Die Anzucht erfolgt im Konstantraum bei 18—22° C, etwa 1000 Lux (Osram-HNT-Leuchtstoffröhren) im 14:10 Stundentag.

Für die Versuche werden Objektträgerpräparate angelegt. Im Gegensatz zu *Mougeotia*-Präparaten, bei denen eine Drehung der einzelnen Zellen durch die Krümmung der Fäden verhindert wird, müssen *Mesotaenium*-Zellen zur sicheren Fixierung auf einen dünnen Agarfilm aufgetragen werden, auf dem sie fest haften. Die gleichmäßige Orientierung aller Chloroplasten, ihr Richten in Kantenstellung, erfolgt dann durch seitliche Beleuchtung in gleicher Weise wie bei *Mougeotia* (HAUPT 1959), nur erwies es sich als zweckmäßig, diese Behandlung hier auf 5 Std auszudehnen. Nach rascher mikroskopischer Kontrolle bei grünem Licht schloß sich im Gegensatz zu *Mougeotia* die Induktionsbestrahlung sofort an (s. S. 390). Als Lichtquelle hierfür stand ein Leitz-Projektor mit einer Osram-Glühbirne 250 W zur Verfügung. Das für die Versuche benötigte monochromatische Hellrot (HR) liefert ein Interferenz-Bandfilter „AL 665" von Schott u. Gen.

(Mainz) mit maximaler Durchlässigkeit bei 665 nm und 21 nm Halbwertsbreite, kombiniert mit einem Schottfilter KG 1 (4 mm) zur Absorption der Wärmestrahlen. Die Intensität, die mit einer Kipp-Thermosäule im Energiemaß gemessen wurde, betrug in diesem Falle 5000 erg/cm²sec und konnte dann durch Graufilter von Schott beliebig reduziert werden. Zur Erzeugung dunkelroter Strahlung (DR, $>$ 700 nm) eignet sich ein Schottfilter RG 9 (2 mm); allerdings ist in diesen Fällen keine sinnvolle Energiemessung möglich (vgl. HAUPT 1959), war aber auch in unseren Versuchen nicht notwendig, da hier die DR-Wirkung nicht quantitativ untersucht werden sollte.

Die Induktionsbestrahlung erfolgte kontinuierlich bis zu 30 min oder fraktioniert, d.h. mit mehrfach wiederholten kurzen Belichtungen, die sich über einen Zeitraum von 30 oder 60 min erstreckten. Die Reaktion werteten wir aus, indem wir in mehreren Gesichtsfeldern den Prozentsatz der Zellen auszählten, in denen der Chloroplast Flächenstellung eingenommen hatte („Reaktionsprozente", im allgemeinen aus 100 Zellen ermittelt). Diese Auswertung fand 30—60 min nach Beginn der Induktionsbestrahlung statt.

Für zahlreiche Versuche polarisierten wir das Licht mit der UV-Polarisationsfolie von Käsemann (Oberaudorf/Inn) und werteten nur die Zellen aus, die mit ihrer Längsachse senkrecht oder parallel zur Schwingungsebene (E-Vektor) lagen.

Experimenteller Teil

1. Vorversuche

Anfangs wurden die Versuche (mit Ausnahme des verlängerten „Richtens") ganz in Übereinstimmung mit *Mougeotia* durchgeführt: Nachdem die Chloroplasten in Kantenstellung gerichtet waren, blieben die Präparate noch etwa 1 Std im Dunkeln, bevor die induzierende Bestrahlung erfolgte, und erst 45—60 min nach Beginn derselben wurde die Reaktion ausgewertet. Die Ergebnisse waren sehr unbefriedigend, da unter diesen Bedingungen auch die unbestrahlen Kontrollen (Blindwerte) bereits recht hohe „Reaktionsprozente" aufwiesen, d.h. auch in diesem Falle hatte sich ein ansehnlicher Prozentsatz in Flächenstellung gedreht. Das konnte zweierlei Ursachen haben: Entweder stellt sich der Chloroplast unter dem Einfluß der Schwerkraft (geotaktisch) in Flächenstellung, wenn der richtende Lichtreiz fehlt, oder nach Wegfallen dieses richtenden Reizes vollführen die Chloroplasten ungeordnete Bewegungen, aus denen nach gewisser Zeit dann eine statistische Verteilung der Chloroplastenstellungen in einem Kollektiv von *Mesotaenium*-Zellen resultiert.

Zur Klärung dieser Frage wurden *Mesotaenium*-Präparate von der Seite (normales „Richten") oder von oben belichtet, bis die Chloroplasten in Kante bzw. Fläche standen, und anschließend in Dunkelheit gebracht. Mit grüner Mikroskopbeleuchtung wurde die Chloroplastenstellung von Zeit zu Zeit kontrolliert. Die Ergebnisse sind in Abb. 1 dargestellt; die Kurven lassen erkennen, daß im Verlaufe einiger Stunden ein mittlerer Wert (etwa 50% Flächen) angestrebt wird, gleichgültig ob die Ausgangslage Flächen- oder Kantenstellung war. Der beobachtete

Effekt läßt sich also befriedigend mit autonomen Chloroplastendrehungen deuten, die zu einer Zufallsverteilung führen.

Eine Alternative zu dieser Erklärung, die an der methodischen Bedeutung dieses Effektes nichts ändern würde, läßt sich zur Zeit allerdings noch nicht ausschließen: daß nicht der Chloroplast, sondern die ganze Zelle derartige autonome Drehungen durchführt. Außerdem soll die Feststellung, daß die beobachtete Erscheinung auf solche autonome Drehungen des Chloroplasten (oder der Zelle) zurückzuführen ist, die Möglichkeit nicht ausschließen, daß zusätzlich noch eine gewisse untergeordnete richtende Wirkung der Schwerkraft hinzukommt. Ein eindeutiger Beweis für oder gegen diese Annahme konnte noch nicht erbracht werden.

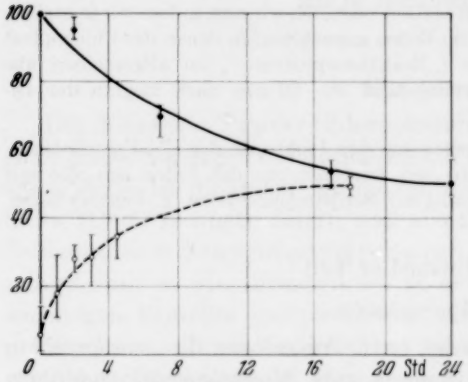


Abb. 1. Die Chloroplastenbewegung von *Mesotaenium* ohne äußeren richtenden Reiz. Bis Versuchsbeginn wurden die Zellen seitlich bzw. von oben beleuchtet und die Chloroplasten dadurch in Kante (untere Kurve) bzw. Fläche (obere Kurve) gerichtet. Während der anschließenden Dunkelperiode (Abszisse, in Stunden) wurde die Chloroplastenstellung laufend kontrolliert. Ordinate: Prozentsatz der Zellen, in denen der Chloroplast Flächenstellung eingenommen hat. Mittelwerte aus mehreren Versuchen mit Streuungsbreite (Extremwerte)

Methodisch ist der in Abb. 1 dargestellte Befund von großer Bedeutung; er führte dazu, daß die Dunkelpause zwischen Richten und Induktion ganz weggelassen wurde, die Präparate also unmittelbar nach dem Richten der Induktionsbestrahlung ausgesetzt wurden. Die geringere Empfindlichkeit, die nach den *Mougeotia*-Versuchen unter diesen Bedingungen zu erwarten war (HAUPT 1959, S. 489), mußte in Kauf genommen werden. Außerdem zeigen die Ergebnisse, daß bei *Mesotaenium* die Blindkontrolle weniger entbehrlich ist als bei *Mougeotia*. Schließlich deuten die Kurven bereits darauf hin, daß bei *Mesotaenium* eine Induktion nicht sehr lange nachwirken kann, wenn schon eine 5stündige ununterbrochene seitliche Belichtung so schnell „vergessen" wird.

Die ersten Versuche, in gleicher Weise wie bei *Mougeotia* mit starken Belichtungen (Hellrot, 665 nm) von nur wenigen Sekunden oder Minuten Dauer eine Drehung in Flächenstellung zu induzieren (Schwachlichtbewegung), schlugen völlig fehl. Da jedoch die prinzipielle Reaktionsfähigkeit bereits bekannt war — die Präparate hatten sich ja nach der seitlichen Belichtung gerichtet —, mußte diese auch hier zu finden sein. Die Bestrahlungsdauer wurde also zunächst drastisch verlängert. Nach einer halbstündigen Dauerbelichtung waren tatsächlich fast alle Chloroplasten in Flächenstellung; die Auswertung erfolgte dabei unmittelbar nach Abschluß der Bestrahlung, also 30 min nach Induktionsbeginn, und

an dieser Versuchszeit von 30 min wurde auch im folgenden festgehalten, abgesehen von einigen Fällen, in denen die Bestrahlungszeit auf 60 min ausgedehnt werden mußte (s. unten).

2. Der Lichtbedarf für die Schwachlichtbewegung

Da bei *Mougeotia* für die Induktion das Reizmengengesetz gilt, war zu prüfen, ob das auch bei *Mesotaenium* der Fall ist; es mußten also,

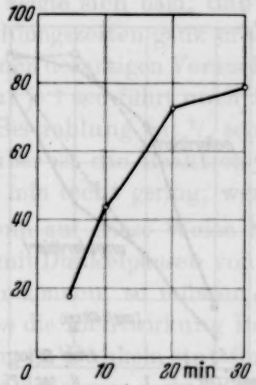


Abb. 2

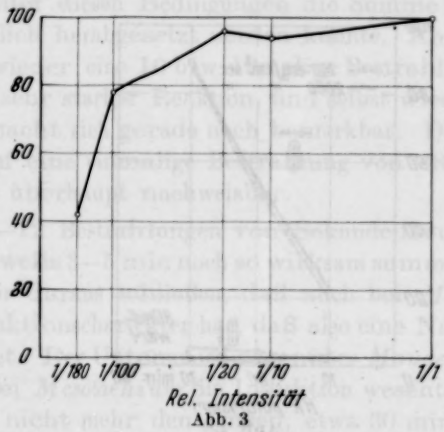


Abb. 3

Abb. 2. Die Chloroplastenbewegung nach verschieden langer Dauerbelichtung, ausgewertet einheitlich 30 min nach Beleuchtungsbeginn. Polarisiertes Hellrot (665 nm, quer zum Faden schwingend), 2000 erg/cm² sec. Ordinate: Reaktionsprozente

Abb. 3. Die Chloroplastenbewegung nach 30minütiger Dauerbestrahlung mit Hellrot (665 nm), unpolarisiert, in Abhängigkeit von der Strahlungsintensität (Abszisse, in relativen Einheiten; $^1/_1$ = 5000 erg/cm² sec). Ordinate: Reaktionsprozente

ausgehend von einer wirksamen halbstündigen Bestrahlung, die Wirkung herabgesetzter Intensität und diejenige herabgesetzter Bestrahlungszeit miteinander verglichen werden.

Die Abhängigkeit von der Bestrahlungs*zeit* zeigt Abb. 2. Die Präparate wurden nicht nach Beendigung der Bestrahlung, sondern 30 min nach Bestrahlungsbeginn ausgezählt. Eine Verkürzung der Dauer auf $^1/_3$ (= 10 min) setzt die Reaktion ganz erheblich herab, entsprechend den im vorigen Abschnitt besprochenen Ergebnissen. Wird dagegen bei konstanter Bestrahlungszeit von 30 min die *Intensität* herabgesetzt, so ist zunächst von einer Verminderung der Reaktionsgröße nichts zu bemerken (Abb. 3). Erst bei einer Verringerung auf $^1/_{100}$ der ursprünglichen Intensität wird eine Abnahme der Reaktion deutlich. Besonders instruktiv ist in dieser Hinsicht noch der in Abb. 4 (obere Kurven) dargestellte Versuch, in dem verschiedene Bestrahlungszeiten bei 2 Intensitäten miteinander verglichen wurden. Die Reaktionsgröße in Abhängigkeit

von der Bestrahlungszeit ist hier exakt die gleiche, unabhängig davon, ob die volle oder $^1/_{20}$ der Intensität eingestrahlt wurde.

Bei den in Abb. 2 und 4 dargestellten Versuchen handelt es sich um Bestrahlungen mit polarisiertem Licht (s. unten); von den noch zu besprechenden quantitativen Verschiebungen der Kurven abgesehen, ergeben Bestrahlungen mit unpolarisiertem Licht grundsätzlich gleichen Kurvenverlauf.

Wir müssen aus den Ergebnissen folgern, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen das Reizmengengesetz ungültig ist, daß vielmehr

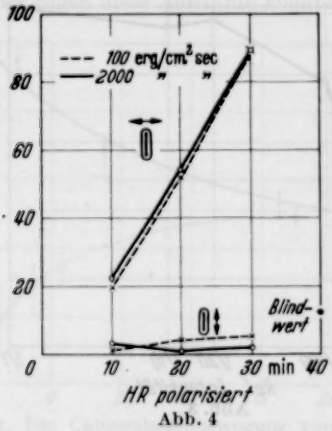


Abb. 4

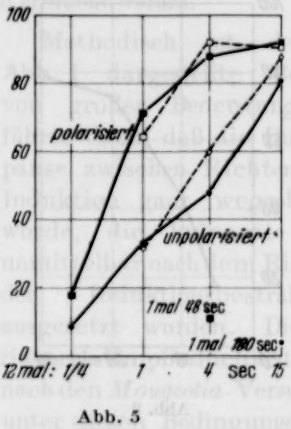


Abb. 5

Abb. 4. Die Chloroplastenbewegung nach verschieden langer Dauerbelichtung (Abszisse), ausgewertet einheitlich 30 min nach Beleuchtungsbeginn. Polarisiertes HR (665 nm), quer bzw. längs zum Faden schwingend (obere bzw. untere Kurven), zwei verschiedene Intensitäten. Ordinate: Reaktionsprozente. Blindwert: ohne Bestrahlung

Abb. 5. Die Chloroplastenbewegung bei Induktion mit polarisiertem und unpolarisiertem Licht. Bestrahlung 12mal in Abständen von je 5 min mit den auf der Abszisse angegebenen Bestrahlungszeiten, HR (665 nm), polarisiert (querschwingend, □ ■) 2000 erg/cm² sec, bzw. unpolarisiert (○ ●) 4000 erg/cm² sec. Ordinate: Reaktionsprozente. Dargestellt sind zwei unabhängig voneinander durchgeführte Versuche (□ ○ bzw. ■ ●). Zum Vergleich: die gleiche Strahlungsmenge auf einmal, nicht fraktioniert geboten (isolierte Punkte)

in weiten Grenzen die Reaktion ausschließlich eine Funktion der Bestrahlungszeit ist. Darüber hinaus aber scheinen die Versuche auch darauf hinzuweisen, daß die Lichtwirkung im Gegensatz zu den Verhältnissen bei *Mougeotia* hier keinen Induktionscharakter hat, daß also die Bestrahlung im wesentlichen so lange dauern muß, bis die Reaktion abgeschlossen ist. *Mesotaenium* würde damit für weitere Versuche ein recht ungeeignetes Objekt abgeben, da unter diesen Umständen z.B. eine Untersuchung oder auch nur eine Feststellung des HR-DR-Antagonismus kaum möglich wäre.

Die folgenden Versuche sollten nun zeigen, ob bei *Mesotaenium* wirklich keine echte Induktion, also die Nachwirkung einer Bestrahlung möglich ist. An Stelle einer halbstündigen Dauerbelichtung bestrahlten wir die Präparate fraktioniert, d.h. wir gaben innerhalb einer halbstün-

digen Periode mehrere kurze Bestrahlungen. Nach einigen Vorversuchen erwies sich eine 10malige Bestrahlung in Abständen von je 3 min als am zweckmäßigsten.

Aus Gründen, die wir noch nicht kennen, gibt es auch bei *Mesotaenium* (wie bei *Mougeotia*) Perioden schlechter Reaktionsfähigkeit. In solchen Fällen führte eine leichte Modifikation der Versuchsanordnung schnell zu guten Reaktionswerten: wir bestrahlten 12mal in Abständen von je 5 min (vgl. z. B. Abb. 5, 8—10).

Es zeigte sich bald, daß unter diesen Bedingungen die Summe der Bestrahlungszeiten ganz erheblich herabgesetzt werden konnte. Abb. 5 gibt einen derartigen Versuch wieder; eine 10 bzw. 12malige Bestrahlung von nur je 1 sec führt noch zu sehr starker Reaktion, und selbst wiederholte Bestrahlung mit $^1/_4$ sec macht sich gerade noch bemerkbar. Demgegenüber ist die Reaktion auf eine einmalige Bestrahlung von 48 sec oder 3 min recht gering, wenn überhaupt nachweisbar.

Wenn auf diese Weise 10—12 Bestrahlungen von Sekundenbruchteilen mit Dunkelpausen von jeweils 3—5 min noch so wirksam summiert werden können, so müssen wir daraus schließen, daß auch bei *Mesotaenium* die Lichtwirkung Induktionscharakter hat, daß also eine Nachwirkung im Dunkeln stattfindet. Der Unterschied gegenüber *Mougeotia* besteht dann nur darin, daß bei *Mesotaenium* die Induktion wesentlich schneller abklingt, so daß sie nicht mehr den ganzen, etwa 30 min in Anspruch nehmenden Bewegungsvorgang steuern kann.

Methodisch haben wir in der fraktionierten Belichtung nun die Möglichkeit gewonnen, mit ebenso kurzen Bestrahlungszeiten zu arbeiten wie bei *Mougeotia*. Der Vorteil dieses Verfahrens zeigt sich in den folgenden Versuchen, in denen wir diese kurzen Bestrahlungen, die 10—12mal wiederholt werden, als „Teilinduktionen" bezeichnen wollen.

Die Ungültigkeit des Reizmengengesetzes in der ursprünglichen Versuchsanordnung hat durch die eben geschilderten Versuche eine überraschend einfache Erklärung gefunden; es wäre jedoch nun zu erwarten, daß für die *Teilinduktionen* das Reizmengengesetz gültig ist. Dies wurde im folgenden untersucht. Abb. 6 stellt die Abhängigkeit der Reaktion von der Dauer der Teilinduktionen bei verschiedenen Intensitäten derselben dar. Der Anstieg der Dosis-Effekt-Kurven entspricht weitgehend den Erfahrungen bei *Mougeotia*. Wenn wir diese Dosis-Effekt-Kurven so anordnen, daß wir auf der Abszisse nicht die Bestrahlungszeit, sondern das Produkt aus Intensität und Zeit (also die Energie oder „Lichtmenge") für die Teilinduktionen auftragen, so liegen die Kurven so nahe beieinander, daß wir das Reizmengengesetz innerhalb der Teilinduktionen mit genügender Genauigkeit als gültig ansehen können (Abb. 7). Wir dürfen also in Zukunft bei den Teilinduktionen (aber nur bei diesen!) Intensität und Zeit durcheinander ersetzen.

Vergleichen wir die Absolutwerte der Dosis-Effekt-Kurven von *Mesotaenium* mit denen von *Mougeotia*, so finden wir entsprechende Reaktionen in beiden Fällen in der gleichen Größenordnung der Bestrahlung. *Mesotaenium* reagiert beispielsweise zu 50% nach Bestrahlung mit etwa 10×1000 erg/cm² (Abb. 7), während für *Mougeotia* der gleiche Reaktionswert im Bereich von 1×400 bis 1×8000 erg/cm² gefunden wird (HAUPT 1959, 1960).

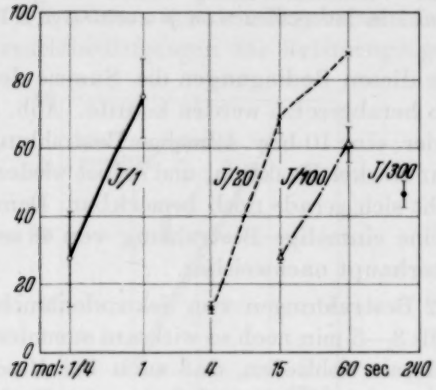


Abb. 6

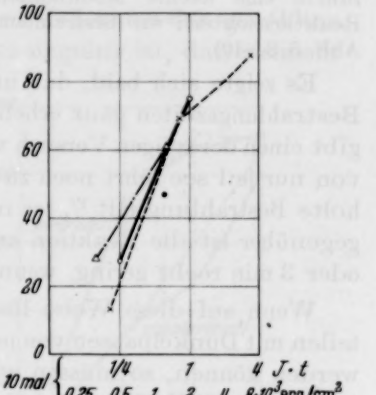


Abb. 7

Abb. 6. Die Chloroplastenbewegung in Abhängigkeit von Intensität und Dauer der Teilinduktionen. Bestrahlung 10mal in Abständen von je 3 min mit den auf der Abszisse angegebenen Bestrahlungszeiten und verschiedenen Intensitäten ($^1/_1$ = 2000 erg/cm² sec), HR (665 nm) polarisiert. Für den Wert „relative Intensität $^1/_{200}$" wurde das Präparat in jeder Periode 180 sec bestrahlt, erhielt also Dauerlicht während der 30minütigen Versuchszeit. Ordinate: Reaktionsprozente. Mittelwerte aus zwei verschiedenen Versuchen, Einzelwerte jeweils als Streuungsbreite angegeben

Abb. 7. Die Chloroplastenbewegung in Abhängigkeit von der Energie der Teilinduktionen. Die Kurven der Abb. 6 sind so angeordnet, daß auf der Abszisse statt der Bestrahlungszeit die Energie (Intensität × Zeit, relativ und absolut) der 10mal wiederholten Teilinduktionen angegeben ist

3. Die Wirkung linear polarisierten Lichtes

Wenn die molekulare Ordnung der Photoreceptoren bei *Mougeotia* eine Grundvoraussetzung für das Zustandekommen einer Schwachlichtbewegung ist, dann muß die gleiche Anordnung auch bei *Mesotaenium* anzutreffen sein, wir müssen also auch hier eine Abhängigkeit der Reaktion von der Orientierung der Schwingungsebene des induzierenden Lichtes finden. Die Versuche zeigen, daß tatsächlich auch bei *Mesotaenium* quer zur Zelle schwingendes Licht wesentlich wirksamer ist als parallel schwingendes bzw. daß überhaupt nur querschwingendes Licht die Bewegung induzieren kann (Abb. 4). Darüber hinaus konnte nun auch für *Mesotaenium* die induktionshemmende Wirkung einer „falsch orientierten" Strahlung nachgewiesen werden, und zwar auf zweifache Weise.

Mesotaenium-Präparate wurden fraktioniert bestrahlt, und zwar mit verschiedenen Teilinduktionszeiten. Die Intensität wurde konstant ge-

halten und so eingestellt, daß das unpolarisierte Licht gerade doppelt so viel Intensität hatte wie das polarisierte. Das unpolarisierte Licht besaß also in der „richtigen" Schwingungsrichtung die gleiche Intensität wie das polarisierte, enthielt aber zusätzlich noch die gleiche Menge an Licht der „falschen" Schwingungsebene. Ausgewertet wurden im Falle polarisierter Strahlung die Zellen, die quer zur Schwingungsebene lagen. Abb. 5 zeigt einen Versuch, bei dem beiderlei Strahlung in dieser Weise miteinander verglichen wurde. Unpolarisiertes Licht ist deutlich weniger wirksam als polarisiertes. Aus diesem Grunde wurde bereits die Mehrzahl der quantitativen Versuche des vorigen Abschnitts mit polarisiertem Licht ausgeführt.

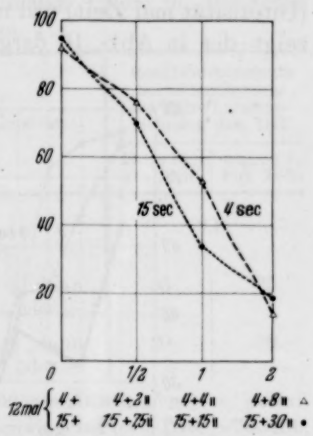


Abb. 8. Die antagonistische Wirkung längsschwingender HR-Strahlung auf die Induktion der Chloroplastenbewegung. Induktion einheitlich mit 4 oder 15 sec HR (665 nm), 2000 erg/cm² sec, polarisiert, querschwingend (+); unmittelbar anschließend mit längsschwingendem HR (||) gleicher Intensität nachbestrahlt. Die Dauer der Nachbestrahlung ist auf der Abszisse absolut (untere Maßskalen, in Sekunden) und relativ (bezogen auf die Induktionsdauer, obere Skala) angegeben. Alle Bestrahlungskombinationen 12mal in Abständen von je 5 min. Ordinate: Reaktionsprozente

Die induktionshemmende Wirkung längsschwingender Strahlung wurde ferner durch Versuche nachgewiesen, in denen polarisiertes HR erst quer und anschließend längs zur Zelle eingestrahlt wurde, wieder nach der Methode der fraktionierten Induktion, so daß alle 3 min zwei Bestrahlungen aufeinanderfolgten. Die Wirkung der Induktion wird auf diese Weise erheblich herabgesetzt. Entsprechend wie bei *Mougeotia* erweiterten wir auch hier den Versuch in der Weise, daß die nachfolgende hemmende (längsschwingende) Bestrahlung quantitativ abgestuft und in den graphischen Darstellungen (Abb. 8) in Vielfachen der Induktionsbestrahlung angegeben wurde. Abb. 8 zeigt zwei derartige Versuche, die sich in der als Energieeinheit dienenden Induktion unterscheiden: Die relative induktionshemmende Wirkung der Nachbestrahlung ist größer, wenn mit höheren Induktionsenergien gearbeitet wird, wieder entsprechend den bei *Mougeotia* gefundenen Gesetzmäßigkeiten (HAUPT 1960) über den „Quer-Längs-Antagonismus".

Bei diesen Versuchen wurde beobachtet, daß Bestrahlung mit längsschwingendem Licht *vor* der Induktion (querschwingend) ebenfalls zu einer Hemmung der Induktion führen kann. In einigen Versuchen wurde dies noch einmal speziell untersucht. Abb. 9 zeigt einen Vergleich der Wirkung längsschwingender Strahlung, die vor, während und nach der Induktion (querschwingend) geboten wurde; als Kontrollen sind der reine Induktionswert sowie die (praktisch fehlende) Induktionswirkung

längsschwingender Strahlung allein hinzugefügt. Ein Vergleich der Kurven zeigt, daß die relative Hemmwirkung vorangegangener „falsch schwingender" Strahlung um so größer ist, mit je geringerer Induktions- und Hemmenergie gearbeitet wird, ganz im Gegensatz zur Hemmung durch Nachbestrahlung (s. oben). Daß dabei tatsächlich die Energie (Intensität mal Zeit) und nicht der Zeitfaktor allein ausschlaggebend ist, zeigt der in Abb. 10 dargestellte Versuch, in dem der Kurvenverlauf

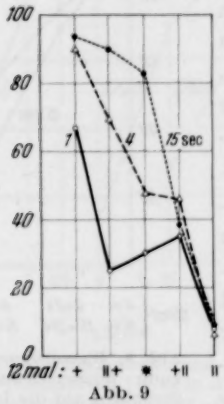


Abb. 9

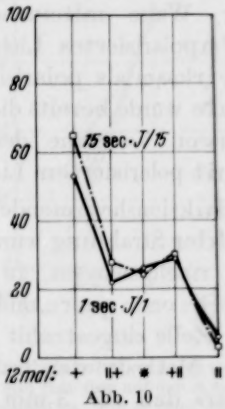


Abb. 10

Abb. 9. Die Chloroplastenbewegung unter dem Einfluß verschiedener Kombinationen quer- und längsschwingender Strahlung (HR, 665 nm). Polarisiertes Licht 2000 erg/cm² sec quer (+) oder längsschwingend (||) allein, längs unmittelbar vor (|| +) oder nach quer (+ ||). Unpolarisiert (•) 4000 erg/cm² sec (entspricht + und || je 2000 erg/cm² sec gleichzeitig). Alle Bestrahlungen 1, 4 oder 15 sec. Die Bestrahlungskombinationen 12mal in Abständen von je 5 min. Ordinate: Reaktionsprozente

Abb. 10. Die Chloroplastenbewegung unter dem Einfluß verschiedener Kombinationen quer- und längsschwingender Strahlung. Abszisse und Ordinate wie Abb. 9. Die beiden Kurven wurden mit gleicher Strahlungsenergie gewonnen, unterscheiden sich aber in der Zusammensetzung derselben aus Intensität × Zeit. Intensität $^1/_1$ = 2000 erg/cm² sec (polarisiertes HR, +, ||) bzw. 4000 erg/cm² sec (unpolarisiertes HR, •)

unabhängig davon ist, ob die einfache Intensität je 1 sec oder die auf $^1/_{15}$ reduzierte Intensität je 15 sec eingestrahlt wurde.

Diese zuletzt beschriebenen Ergebnisse sind allerdings insofern noch nicht eindeutig, als alle Bestrahlungen ja nach dem Prinzip der fraktionierten Induktion durchgeführt werden mußten, so daß jede *vor* einer Induktion gebotene Bestrahlung auch aufgefaßt werden kann als auf die vorhergehende Induktion folgende, wobei nur die Pause zwischen Induktion und Nachbestrahlung verlängert wurde. Versuche, die hier eine Entscheidung herbeiführen sollten, brachten bis jetzt noch keine eindeutigen Ergebnisse.

4. Der Hellrot-Dunkelrot-Antagonismus

Auch der HR-DR-Antagonismus kann mit der Methode der fraktionierten Induktion leicht demonstriert werden. Auf jede Teilinduktion folgt eine DR-Strahlung. Die Tabelle zeigt das Ergebnis eines solchen

Versuches. Hier wurde zugleich auch die Schwingungsrichtung des polarisierten DR variiert, und wir sehen — in Übereinstimmung mit *Mougeotia* —, daß der induktionslöschende Effekt sowohl in quer- als auch in längsschwingendem DR auftritt. Qualitative Versuche machen es wahrscheinlich, daß auch hier — in Übereinstimmung mit *Mougeotia* — senkrecht zur Zelle schwingendes DR etwas wirksamer die Induktion löscht als parallel zur Zelle schwingendes.

Die *induzierende* Wirkung von DR-Strahlung, die energetisch für eine Induktionslöschung nicht ausreicht, kann bei *Mesotaenium* nicht so überzeugend demonstriert werden wie bei *Mougeotia*, scheint aber auch vorhanden zu sein.

Tabelle. *HR-DR-Antagonismus bei der Chloroplastenbewegung*

Bestrahlungen 12mal in Abständen von je 5 min.

Bestrahlungsfolge[1]	Reaktionsprozente bei Orientierung der Schwingungsrichtung des DR	
	längs (∥) zur Zelle	quer (+) zur Zelle
15 sec HR + ohne DR	78	
15 sec HR +, dann 30 sec DR ∥ oder +	55	25
15 sec HR +, dann 60 sec DR ∥ oder +	20	10

[1] HR: 665nm 2000 erg/cm² sec, polarisiert, querschwingend (+). DR: >700 nm, polarisiert, längs- (∥) oder querschwingend (+).

Diskussion

Rein äußerlich betrachtet, gehört die Chloroplastenbewegung von *Mesotaenium* zum gleichen Bewegungstyp wie diejenige von *Mougeotia:* Drehung eines plattenförmigen Chloroplasten um seine Längsachse. Die Analyse dieser Bewegung, über die in der vorliegenden Arbeit berichtet wurde, zeigt darüber hinaus, daß eine bemerkenswerte Übereinstimmung auch in physiologischer Hinsicht besteht.

Bis zum Bewegungs*mechanismus* ist die Analyse noch nicht vorgedrungen; wir müssen uns mit der Feststellung begnügen, daß aller Wahrscheinlichkeit nach dieser in beiden Fällen der gleiche ist. Darauf deutet die Übereinstimmung im zeitlichen Verlauf der Bewegung: die Drehung in Flächenstellung („Schwachlichtbewegung") ist nach 30 bis 60 min beendet. Ein zahlenmäßig exakter Vergleich ist jedoch noch nicht möglich, so lange die Abhängigkeit der Bewegungsgeschwindigkeit von äußeren und inneren Faktoren nicht erforscht ist (z. B. Temperatur, Viscosität, Vorbehandlung).

Der *Induktionsvorgang* dagegen läßt sich bereits etwas näher charakterisieren. Zunächst interessiert naturgemäß der photochemische *Primärprozeß*. Nachdem bei *Mesotaenium* das HR-DR-System in gleicher Weise wirksam ist wie bei *Mougeotia*, können wir mit Sicherheit die Identität der lichtabsorbierenden Pigmente in beiden Fällen behaupten, auch ohne

für *Mesotaenium* ein Wirkungsspektrum aufzunehmen: hier wie dort wird die Reaktion durch Lichtabsorption im Phytochrom eingeleitet. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang noch die Übereinstimmung in der absoluten Höhe der benötigten Energie, die zwischen beiden Objekten keine größeren Differenzen aufweist als innerhalb eines Stammes von *Mougeotia* unter verschiedenen, noch nicht kontrollierbaren inneren Bedingungen (vgl. HAUPT 1960).

Voraussetzung dafür, daß eine Neuorientierung des Chloroplasten zustande kommt, ist allerdings nicht die Absorption als solche, sondern eine *ungleiche* Absorption an verschiedenen Stellen der Zelle. Für dieses Zustandekommen ungleicher Lichtabsorption scheint die orientierte Lagerung der Photoreceptor-Moleküle eine ausschlaggebende Rolle zu spielen, wie Versuche an *Mougeotia* mit polarisiertem Licht ergaben. Diese Auffassung wird nun gestützt durch das gleiche Reaktionsverhalten von *Mesotaenium* gegenüber polarisiertem Licht.

Die weitergehenden Folgerungen, die bei *Mougeotia* hypothetisch an diese Beobachtungen angeknüpft wurden und die sich mit der Lokalisierung des Photoreceptors befassen, werden allerdings von den Ergebnissen an *Mesotaenium* nicht berührt; vorläufig muß auch hier die Frage unentschieden bleiben, ob eine Absorption im Cytoplasma oder im Chloroplasten die Reaktion vermittelt.

Nachdem bei *Mougeotia* und *Mesotaenium* die antagonistische Wirkung längsschwingender Strahlung nachgewiesen war, wäre zu erwarten, daß unpolarisiertes Licht (das also zusätzlich zur „richtigen" Strahlung noch „falsche" enthält) weniger wirksam ist als polarisiertes (quer schwingendes). Dieser Unterschied, der sich bei *Mougeotia* bis jetzt noch nicht demonstrieren ließ, zeigt sich bei *Mesotaenium* überzeugend (vgl. Abb. 5). Ob darüber hinaus — im Gegensatz zu *Mougeotia* — längsschwingendes Licht auch dann induktionshemmend wirkt, wenn es *vor* statt *mit* oder *nach* der induzierenden Bestrahlung (querschwingend) geboten wird, kann aus den mitgeteilten Versuchen noch nicht eindeutig entschieden werden (s. S. 396).

Können wir nun auch schon etwas aussagen über den *Sekundärprozeß*, d.h. über die Vorgänge, die unmittelbar durch die Lichtabsorption in Gang gesetzt werden? Wir dürfen wohl annehmen, daß dieser Sekundärprozeß in irgendeiner Weise in der Herstellung eines plasmatischen Gradienten, einer Polarisierung besteht, sei es im Cytoplasma, sei es im Chloroplasten. Dieser Gradient ist sicher nicht irreversibel, er klingt vielmehr relativ schnell wieder ab. Dies äußert sich z. B. darin, daß sich eine Nachwirkung einer vorangegangenen einseitigen Beleuchtung bei *Mougeotia* nicht länger als etwa 45 min nachweisen läßt (HAUPT 1959). Von hier aus läßt sich der wesentliche Unterschied im Verhalten von *Mougeotia* und *Mesotaenium* ohne Schwierigkeiten auf rein quantitativer Basis verstehen: Der Gradient (oder das physikalisch-chemische Ungleichgewicht in der Zelle) gleicht sich bei *Mesotaenium* noch viel schneller aus als bei *Mougeotia*; länger als höchstens 10 min läßt sich

die Nachwirkung einer Belichtung nicht mehr feststellen. In dieser Zeit aber ist die Bewegung noch nicht vollendet, wir benötigen also wiederholte Induktionen („Teilinduktionen"), damit die Reaktion optimal zu Ende geführt werden kann. Die Kinetik des Abklingens dieses Gradienten, gemessen an der Halbwertszeit — entsprechend den Untersuchungen von BRAUNER und HAGER (1959) bei der geotropischen Induktion — wäre eine reizvolle Aufgabe für weitere Untersuchungen, insbesondere wenn die Abhängigkeit von Außenfaktoren (Temperatur, Stoffwechselgifte) mit berücksichtigt würde.

Wenn hier das „schlechtere Gedächtnis" als wesentlicher Punkt hingestellt wird, in dem sich *Mesotaenium* von *Mougeotia* unterscheidet, so scheint dieser Unterschied doch kein grundsätzlicher zu sein. In unseren *Mougeotia*-Kulturen trat wiederholt Material auf, das sich bei der vorbereitenden seitlichen Beleuchtung von 1 Std (Dauerlicht!) vorzüglich in Kantenstellung richtete, dann aber auf die normalen kurzen Induktionen überhaupt nicht reagierte, auch wenn die Intensität derselben noch erheblich gesteigert wurde. Seinerzeit wurden solche Kulturen jeweils als unbrauchbar verworfen, ein fraktionierte Induktion, die nach unseren Erfahrungen mit *Mesotaenium* sicher zum Ziel geführt hätte, wurde damals nicht versucht.

Methodisch gesehen bedeutet natürlich eine fraktionierte Belichtung in der hier beschriebenen Art für den Experimentator eine erhebliche Belastung gegenüber der einmaligen Belichtung bei *Mougeotia*. Doch darf dabei auch ein Vorteil nicht vergessen werden, der sich besonders bei den extrem kurzen Belichtungszeiten auswirkt: durch die 10—12mal wiederholte gleiche Bestrahlungskombination werden geringfügige Fehler, die im Einzelfall in der Bestrahlungszeit und -intensität auftreten könnten und die beim Vergleich paarweise gleicher Bestrahlungen (z. B. quer und längs polarisiert) zu ungenauen Ergebnissen führen müßten, zuverlässig ausgeglichen.

Vergleichen wir im übrigen nicht *Mesotaenium* mit *Mougeotia*, sondern die fraktionierte Belichtung an *Mesotaenium* mit Dauerbelichtung am gleichen Objekt, so bedeutet die Fraktionierung ebenfalls einen Vorteil. Da die Pausen zwischen den einzelnen Bestrahlungen viel größer sind als die Dauer der Bestrahlungen selbst, können in diesen Pausen mehrere weitere Präparate in gleicher Weise bestrahlt werden. Innerhalb der Gesamtperiode von $^1/_2$ bzw. 1 Std können so z. B. 8—10 Präparate an ein und derselben Lichtquelle induziert werden, wodurch die Exaktheit gesteigert und die Arbeit ökonomischer gestaltet wird. Außerdem erfassen wir auf diese Weise den photochemischen Primärprozeß, wie aus der Gültigkeit des Reizmengengesetzes unter diesen Bedingungen erkennbar wird. Die Methode der fraktionierten Bestrahlung hat sich bereits auch bei anderen Fragestellungen bewährt, worüber später berichtet werden soll[1].

[1] Insbesondere wird Herr E. SCHÖNBOHM, der an der Ausarbeitung der fraktionierten Belichtung maßgeblich beteiligt war, hierüber demnächst berichten.

Die Übertragung und Bestätigung der Ergebnisse von *Mougeotia* auf *Mesotaenium* darf nicht nur als reine Analogiearbeit betrachtet werden; *Mesotaenium* bietet für mancherlei Fragestellungen Vorteile gegenüber *Mougeotia*. Bei der Auszählung eines *Mesotaenium*-Präparates werden z. B. 100 Einzelzellen völlig willkürlich und zufällig ausgewertet. Bei der fadenförmigen *Mougeotia* dagegen werden die Zellen einiger weniger Fäden im Zusammenhang ausgezählt; ein einziger Faden, der sich in seiner Gesamtheit abweichend verhält, muß das Gesamtergebnis erheblich verändern. Das führt naturgemäß zu größeren Streuungen bei *Mougeotia* — es sei denn, man sucht sich zum Auswerten solche Fäden aus, die den Gesamteindruck des Präparates zu repräsentieren scheinen; ein solches Verfahren erscheint jedoch bedenklich, auch wenn beim Auswerten die Behandlung des Präparates nicht bekannt ist. Für Versuche, in denen es auf möglichst geringe Streuung ankommt, dürfte also *Mesotaenium* stets zu bevorzugen sein (ein Beispiel für die Streuungsbreite zwischen 2 Versuchen gibt z. B. die Abb. 5, S. 392).

Summary

The movement of the rectangular shaped chloroplast of *Mesotaenium* belongs to the same type as that of *Mougeotia*. Especially the following facts are in agreement with *Mougeotia:* 1. The low-energy movement (so-called positive phototaxis) is induced by the well known red far-red reaction system. 2. Polarized light induces this movement only when vibrating perpendicularly to the cell axis. 3. Polarized red light vibrating parallel to the cell axis is not only ineffective in inducing the movement but antagonizes the induction achieved by cross vibrating light. Therefore, unpolarized light is less effective than polarized light on a basis of equal energy (this latter effect has not been stated in *Mougeotia* until now).

In contrast to *Mougeotia*, in *Mesotaenium* it is impossible to induce movement by single short irradiations of only a few seconds or minutes, but irradiations of about 30 minutes are necessary, and therefore also the reciprocity law does not hold. The long time irradiation, however, can be replaced by 10 to 12 flashes of only a few seconds each with dark periods of 3 to 5 minutes between them. Such a fractionated induction is not only as effective as a continuous one, but now also the reciprocity law is valid for these flashes. The energy requirement is in the same order of magnitude in *Mesotaenium* and in *Mougeotia*.

The essential difference between *Mesotaenium* and *Mougeotia*, we assume, is concerned with the stability of the induction process, which in *Mougeotia* continues long enough to govern the whole movement, whereas in *Mesotaenium* it is lost after a few minutes and therefore it must be repeated several times until the movement is completed.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für finanzielle Unterstützung. Frl. GERTRUD ARNOLD war uns eine zuverlässige und unentbehrliche Hilfe, insbesondere bei den langwierigen fraktionierten Belichtungen; ihr sind wir zu besonderem Dank verpflichtet.

Literatur

BRAUNER, L., u. A. HAGER: Versuche zur Analyse der geotropischen Perzeption. I. Planta (Berl.) **51**, 115—147 (1958).

HAUPT, W.: Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*. I. Mitt. Über den quantitativen und qualitativen Lichtbedarf der Schwachlichtbewegung. Planta (Berl.) **53**, 484—501 (1959).

— Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*. II. Mitt. Die Induktion der Schwachlichtbewegung durch linear polarisiertes Licht. Planta (Berl.) **55**, 465—479 (1960).

KWIATKOWSKY, G.: *Mesogerron* als zellphysiologisches Objekt. Protoplasma (Wien) **39**, 289—294 (1939).

SENN, G.: Die Gestalts- und Lageveränderungen der Pflanzen-Chromatophoren. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1908.

Dozent Dr. W. HAUPT, Botanisches Institut der Universität, Tübingen, Wilhelmstr. 5

Planta 56, 402—408 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Darmstadt

DER EXPERIMENTELLE NACHWEIS EINER MASSENSTRÖMUNG IM PHLOEM VON *HERACLEUM MANTEGAZZIANUM* SOMM. ET LEV.

Von

HUBERT ZIEGLER* und GEORG HEINRICH VIEWEG

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 18. November 1960)

Einleitung

Seit der Formulierung der Massenströmungstheorie durch MÜNCH (1930) ist die Diskussion um den Mechanismus des Stofftransportes in den Siebröhren nicht mehr zur Ruhe gekommen. Sowohl die Anhänger der Münchschen Auffassung als auch diejenigen, die ihr ablehnend gegenüberstanden, stützten sich zumeist auf Indizien, nicht auf direkte Belege; die ersteren etwa auf den Nachweis der wichtigsten Voraussetzungen für die Strömung in den Siebröhren, wie der Semipermeabilität und der Wegsamkeit dieser Elemente und des osmotischen Gradienten in der Strömungsrichtung, oder auf die zahlreichen Befunde über ein Miteinanderlaufen der verschiedensten Stoffgruppen im Phloem; die anderen z. B. auf die Abhängigkeit der Stoffleitung vom Stoffwechsel der Leitgewebe, auf das verschiedentlich beobachtete Gegeneinanderwandern verschiedener Stoffe im selben Rindenabschnitt oder auch auf den Zellbau der Siebröhren, der in mancher Hinsicht einer Strömung des Lumeninhaltes zu widersprechen schien.

Die bisherigen Versuche zum direkten experimentellen Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens einer Strömung in den Siebröhren schlugen entweder fehl (z. B. Auflichtmikroskopie, HUBER 1932; thermoelektrische Messung, HUBER, SCHMIDT u. JAHNEL 1937) oder brachten widersprechende Resultate, wie z. B. der Verfolg des Transportes von fluorescierenden Farbstoffen, die nach SCHUMACHER (1933) im Plasma, nach ROUSCHAL (1941) und BAUER (1949) aber im Lumen der Siebröhren wandern, oder die Analyse des Transportes von Tritiumwasser (THO) im Phloem, die bei BIDDULPH u. CORY (1957) zur Feststellung einer beträchtlichen, für die Massenströmung ausreichenden Wasserverschiebung, bei GAGE u. ARONOFF (1960) aber zu gegenteiligen Befunden führte.

Zwei günstige Voraussetzungen veranlaßten uns, die thermoelektrische Methode erneut für die Klärung dieses Problems einzusetzen: Einmal hatte unsere Versuchsanordnung (VIEWEG u. ZIEGLER 1960), in

* Herrn Prof. Dr. A. FREY-WYSSLING zum 60. Geburtstag gewidmet.

der wir bei (schwacher) Dauerheizung die Temperaturdifferenzen symmetrisch zur Heizstelle angebrachter Lötstellen ermittelten, eine Empfindlichkeitsschwelle von etwa 3 cm Strömung pro Stunde ergeben, einen Wert also, der weit unter der Wandergeschwindigkeit der Assimilate im Phloem (Größenordnung 50—100 cm/h) lag; zum anderen besaßen wir in den Blattstielen von *Heracleum Mantegazzianum* ein Objekt, das mit reinen Phloemsträngen zu arbeiten und damit jede Störung durch den Transpirationsstrom, welche die entsprechenden Experimente von HUBER u. Mitarb. zur Ergebnislosigkeit verurteilte, auszuschließen erlaubte.

Daß eine Verfrachtung von Wärme mit einer Geschwindigkeit, die über das Ausmaß der Wärmediffusion hinausgeht, einen zwingenden Beleg für eine Massenströmung in dem geprüften System darstellen würde, ist nicht zweifelhaft (vgl. auch HUBER u. Mitarb.).

Material und Methoden

Material. Da der Botanische Garten in Mainz über stattlichere *Heracleum*-Pflanzen verfügt als der in Darmstadt, wurden die Experimente dort durchgeführt[1]. Die Blattflächen der Pflanzen zeigten zur Versuchszeit (6. und 13. August 1960[2]) schon erste Vergilbungserscheinungen, es wurden für die Experimente aber nur solche mit rein grünen Laminae und etwa 1,5 m langen Stielen ausgewählt. In den Stiel des jeweiligen Versuchsblattes wurde eine rechteckige Öffnung von ungefähr 6 cm Länge und 2 cm Breite eingeschnitten, welche das hohle Stielinnere freilegte. Ein starkes Leitbündel (von etwa 1 mm Durchmesser) wurde dann im unverletzten Teil des Stieles vorsichtig und ohne Verletzung aus dem Grundgewebe herausgelöst und schließlich auf eine Strecke von 5—6 cm das Phloem vom Xylem getrennt (vgl. ZIEGLER 1958). Während dieser Manipulationen wurde das Gewebe im Stielinnern feucht gehalten.

Wie frühere Versuche gezeigt hatten, sind derartige streckenweise freiliegende Phloemstränge zu einer normalen Assimilat- und Farbstoffleitung in gleicher Weise befähigt wie Leitbündel in ihrer ursprünglichen Lage. Das verwendete Entwicklungsstadium der Pflanzen ist zudem durch einen besonders lebhaften Stofftransport aus den Blattspreiten gekennzeichnet.

Versuchsanordnung. Nachdem Vorversuche gezeigt hatten, daß das empfindliche Gewebe des Phloems das Anbringen von Heizschlaufen und das Bloßliegen während der Versuchszeit nicht vertrug, wurde folgende Anordnung als brauchbar befunden (Abb. 1, 2): In ein Plexiglasblöckchen von 37,5 mm Länge, 9 mm Breite und 4 mm Höhe wurde zunächst ein „Schwalbenschwanz" von 1 mm Tiefe und 6 mm Breite eingefräst, in den ein entsprechender Plexiglasdeckel (*D*) eingeschoben werden konnte (etwa nach Art eines Griffelschachtel-Verschlusses); zur leichteren Handhabung ist es zweckmäßig, wenn der Deckel etwas länger ist als der Boden (in unserem Falle war er 47 mm lang). In die Oberfläche des Bodens wurde dann der

[1] Herrn Prof. Dr. W. TROLL danken wir für die freundliche Nutzungserlaubnis.

[2] Herrn Prof. Dr. E. KNAPP, Direktor des Max Planck-Institutes für Pflanzengenetik, danken wir für die Beurlaubung des einen von uns (G. H. V.).

ganzen Länge nach eine Rinne (*R*) von 2 mm Tiefe und 1,5 mm Breite eingeschnitten, die sich in der Mitte des Blockes auf 12 mm Länge zu einem 3,5 mm breiten und 2,5 mm tiefen Raum (*K*) erweiterte. In diese Kammer wurden durch seitliche Bohrungen die Kupfer-Konstantan-Lötstellen (*L*) fest eingebracht; sie befanden sich in 1,5 mm Tiefe (1,0 mm über dem Boden der Kammer) und waren 5 mm voneinander entfernt. Der Konstantandraht (*Ko*) verband beide Lötstellen, die Kupferdrähte (*Cu*) führten zum Meßinstrument[1].

Bei den Versuchen kam nun der freigelegte Phloemstrang (*P*) in die Längsrinne des Blockes und wurde mittels zweier Seidenfadenschlingen (*S*), die durch Löcher

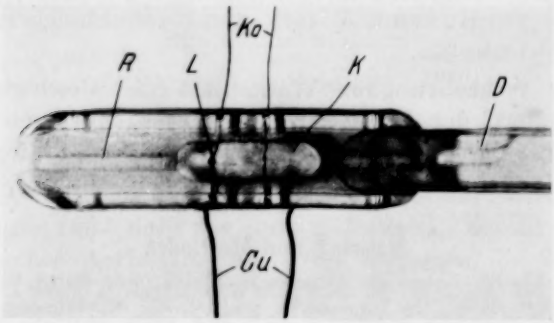


Abb. 1. Plexiglaskammer zur Aufnahme des Phloems. Erläuterung im Text. Vergrößerung etwa 1,4fach

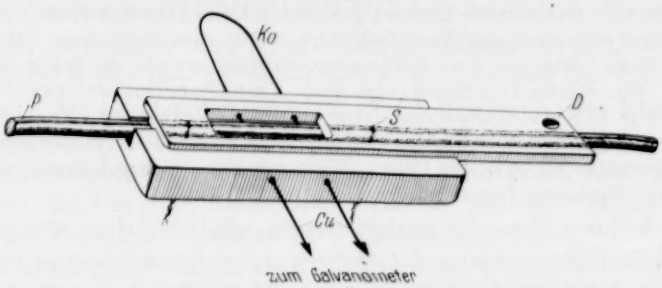


Abb. 2. Skizze der beschickten Kammer. Erläuterung im Text. Maßstab 1:1

im Rinnenboden geführt waren, fest, aber schonend gegen die Lötstellen gedrückt; der Deckel wurde dann geschlossen und das Fenster im Blattstiel soweit mit feuchtem Zellstoff abgedeckt, daß nur der mittlere Teil des Plexiglaskämmerchens freilag.

Geheizt wurde mittels eines auf $^1/_2$ mm Breite gebündelten Lichtstrahles, der von einer Phywe-Mikroskopierlampe mit einer Osram-Birne (6 V, 5 A) erzeugt wurde; der Abstand der Linsen von der Lichtquelle in der Lampe war von uns auf 26 cm verlängert worden. Als Stromquelle diente entweder eine 6 Volt-Batterie oder das 220 Volt-Netz[2]. Die Stromstärke (und damit die Heizintensität) konnte

[1] Unserem Institutsmechaniker, Herrn GEORG GERMANN, danken wir für die sorgfältige und geschickte Fertigung der Kammern.

[2] Da der Standort des *Heracleum* im Mainzer Garten weit von der nächsten Stromquelle entfernt ist, mußten für die Versuche 350 m Kabel gelegt werden; für die leihweise Überlassung sind wir der Hessischen Elektrizitäts AG, Herrn Direktor Prof. W. STRAHRINGER, zu Dank verpflichtet.

durch einen Schiebewiderstand bzw. einen Regeltransformator und durch die Änderung des Abstandes zwischen Lampenende und Plexiglaskammer variiert werden. Die Heizdauer wurde möglichst kurz gehalten, sie betrug jeweils nur wenige Minuten.

Zur Messung der entstandenen Thermospannung wurde ein Hartmann & Braun-Lichtstrichgalvanometer (Ausschlag über die ganze Skalenbreite entspricht 12,5° C Temperaturdifferenz der Kupfer-Konstantan-Lötstellen, 1 Skalenteil 0,125°) verwendet.

Es war notwendig, die ganze Anordnung (Blattstiel und Lampe) mittels verstrebter Stative und Schraubklammern in eine fixe Lage zu bringen.

Versuchsdurchführung und Ergebnis

Es erwies sich als unmöglich, den Lichtstrahl — trotz seiner scharfen Bündelung — ganz genau in die Mitte zwischen den beiden Lötstellen auf das Phloem zu richten. Es konnte deshalb nicht einfach durch die Ermittlung einer entsprechenden Wärmedifferenz zwischen den Lötstellen bei dieser einfachen Anordnung die Frage eines einseitigen Wärmetransportes entschieden werden; zudem waren die zu erwartenden Differenzen bei der notwendigerweise mäßigen Heizung (auf 0,9° C Übertemperatur) ja nur sehr gering.

Folgender Ausweg führte zum Ziel: Es wurden zunächst die Ausschläge des Galvanometers festgestellt, wenn zuerst das Phloem über der einen, dann über der anderen Lötstelle mit derselben Intensität belichtet (und damit geheizt) wurde. Die Mitte zwischen diesen Ausschlägen wurde als Nullage angenommen und das Lichtbündel nun so auf dem Phloemstrang plaziert, daß das Galvanometer diesen Wert anzeigte. (Bei einiger Übung erfordert die ganze Prozedur nur wenige Minuten, so daß eine zu lange Erwärmung des Gewebes vermieden wird.) Im Falle einer Wärmeverschiebung durch Strömung im Phloem mußte die belichtete Stelle etwas von der Mitte gegen die stromaufwärts gelegene Lötstelle verschoben sein, um eine Kompensierung der Wärmezufuhr zu der stromabwärts gelegenen zu ermöglichen; der Betrag dieser Abweichung ist aber bei unserer Anordnung zu gering, als daß er mit der nötigen Sicherheit wahrgenommen werden könnte. Wir halfen uns dadurch, daß wir nach der Einstellung des Nullwertes den Phloemstrang oberhalb der Kammer (näher der Blattspreite) durchtrennten (der Plexiglasbehälter mit dem Phloem behielt während dieser Operation streng seine Lage bei) und so eine vorher eventuell vorhanden gewesene Massenströmung unterbrachen. War ein derartiger Transportmechanismus im intakten Phloem wirksam, so mußte nach seiner Unterbindung die stromabwärts gelegene Lötstelle gegen die stromaufwärts befindliche relativ kälter werden, da sie ja jetzt nicht mehr durch die Strömung mit Wärme versorgt wurde. Gleichzeitig war mit dieser Versuchsanstellung auch ein Einfluß der bloßen Wärmeleitung auf den Meßwert ausgeschaltet; ihr Betrag wurde durch den Schnitt ja nicht verändert.

In sieben verschiedenen Einzelversuchen wurde jedesmal dieser Effekt, d. h. ein relatives Kühlerwerden der der Blattstielbasis zugekehrten Lötstelle, erhalten. Es steht damit fest, daß im Phloem von Heracleum Mantegazzianum ein Wärmetransport durch eine Massenströmung erfolgt.

Der Ausschlag betrug jeweils 1—2 Teilstriche, das entspricht einem Temperaturunterschied von 0,125—0,250° C; er trat etwa 2—3 sec nach dem Durchtrennen des Phloems ein und erreichte gleich die volle Stärke[1].

Es war von Interesse, zu erfahren, welcher Strömungsgeschwindigkeit ein derartiger Thermostrom entspricht. Es war uns nur möglich, eine Größenordnung zu ermitteln, doch genügt dies für unseren Zweck vorläufig. Dazu wurde ein Hanffaden von etwa 1 mm Durchmesser anstelle des Phloems in die Kammer gebracht, mit der Lampe in der Mitte zwischen den beiden Lötstellen beheizt und dann ein Wasserstrom durch den Faden erzeugt, indem ein Ende in eine Fluoresceinlösung getaucht, das andere auf Fließpapier gelegt wurde. Die Wanderung der Lösung wurde durch das Verrücken des Fluoresceins (mit einer UV-Lampe) verfolgt. (Das Zurückbleiben des Fluoresceins hinter der Wasserfront ist bei der von uns verwendeten relativ konzentrierten Fluoresceinlösung (etwa 1:10000) so gering, daß es bei unserem groben Versuch nicht ins Gewicht fällt.)

Wir erhielten einen Ausschlag von 0,1° C bei einer Wandergeschwindigkeit von etwa 35 cm/Std. Unser Meßwert am Phloem entspricht daher einer Strömungsgeschwindigkeit der Größenordnung von 35 bis 70 cm/Std, liegt also durchaus im Bereich der vielfach festgestellten Wandergeschwindigkeit der Assimilate (s. oben).

Diskussion

Unsere Versuchsanordnung schloß einen Einfluß der Wärmediffusion auf den gemessenen Effekt aus; es steht also außer Zweifel, daß im Phloem vor der Durchtrennung die Wärme durch eine einseitig gerichtete (oder zumindest in einer Richtung stark überwiegende) Massenströmung transportiert worden war.

Da neuerdings gelegentlich wieder die Plasmaströmung in den Siebröhren als Vehikel für die beschleunigte Stoffwanderung in Betracht gezogen wird (vgl. z. B. BIDDULPH u. CORY 1960), ist zu überlegen, inwieweit diese Vorgänge bei dem gemessenen Wärmetransport beteiligt sein könnten. Prinzipiell ist natürlich eine Wärmeverschiebung durch strömendes Plasma genau so möglich wie etwa durch strömenden Zellsaft.

Ist nun der Plasmaströmung eine derartige Transportleistung von etwa 50 cm/Std zuzutrauen? Strömte das Plasma durch die einzelnen Siebröhrenglieder über die ganze Länge des Phloems von der Heizstelle bis zur Meßstelle (2,5 mm), so wäre mit einer Strömungsgeschwindigkeit

[1] Der Ausschlag blieb in der Folgezeit (beobachtet bis zu 30 min) völlig konstant.

von der Größenordnung von 10 μ/sec zu rechnen, wenn man einen Wert zugrunde legt, wie er in den Zellen höherer Pflanzen in Ausnahmefällen erreicht wird (vgl. KAMIYA 1959; Tabelle S. 32). Wir kämen damit auf Stundengeschwindigkeiten von 3,6 cm, also auf einen Betrag weit unter dem gemessenen. Nun kann aber gar keine Rede davon sein, daß das strömende Plasma tatsächlich die Siebplatten passiert; wir müssen daher mit einer erheblichen Verzögerung beim Wärmedurchtritt durch die Siebporen rechnen, die nur durch Wärmediffusion überbrückt werden können. (Auf unserem Transportweg von 2,5 mm finden sich bei *Heracleum* immerhin etwa 8 Siebplatten, und die Siebporen sind jeweils ungefähr 1 μ dick.) Diese Überlegungen gelten übrigens nicht nur für die Frage der Leistungsfähigkeit der Plasmaströmung für den Wärmetransport, sondern ebenso für die Stoffverschiebung allgemein.

Selbst wenn man aber diesen Schluß noch als nicht absolut überzeugend betrachten wollte, da über die Strömungsgeschwindigkeit des Siebröhrenplasmas nichts Präzises bekannt ist, kann durch die Plasmaströmung der *einseitig* gerichtete Wärmetransport im intakten Phloem nicht erklärt werden. Kann man sich noch — sehr hypothetisch — vorstellen, daß bei der Verfrachtung spezifischer Wanderstoffe das strömende Siebröhrenplasma an den Siebplatten polar be- und entladen wird und so den polaren Ein- und Austritt der Stoffe aus den Siebröhren und damit die gerichtete Wanderung bewerkstelligt, so ist das für die Wärme undenkbar. Das innerhalb der einzelnen Siebröhren (wenn überhaupt) rotierende oder zirkulierende Plasma wird von der Heizstelle aus die Wärme in beide Richtungen gleich schnell forttragen und kann nicht die Ursache für unseren Effekt sein.

Es ist durch unseren Versuch nicht erwiesen, daß die Massenströmung in sämtlichen Siebröhren des analysierten Phloemstranges in der Richtung des gemessenen Wärmetransportes (basalwärts) erfolgte; es ist prinzipiell möglich — wenn auch nicht wahrscheinlich — daß in einer wesentlich kleineren Zahl eine Strömung in der entgegengesetzten Richtung ablief. Es müßte dann allerdings die Wärmetransportleistung, d. h. die Strömungsgeschwindigkeit, wesentlich höher liegen als oben angenommen, um die festgestellte Wärmedifferenz der beiden Lötstellen zu erklären. (Im Modellversuch war die Strömung ja streng einseitig gerichtet.)

Ebensowenig ist mit der eindeutigen Feststellung einer Massenströmung im *Heracleum*-Phloem auch die Möglichkeit anderer Transportmechanismen sowohl bei dem verwendeten als auch bei anderen Objekten ausgeschaltet. Während zunächst keine Notwendigkeit besteht, bei den entwickelten Blattspielleitbündeln von *Heracleum* (die durchwegs nur ausdifferenzierte, reife, kernlose Siebröhren enthielten) verschiedene Arten der Assimilatwanderung anzunehmen, ist es nicht

unwahrscheinlich, daß sich junge und vielleicht auch primitive Siebröhren bzw. -zellen abweichend verhalten. Es wurde dies schon früher in Betracht gezogen (Arisz 1952, Ziegler 1956) und neuerdings auch durch Experimente wahrscheinlich gemacht (Biddulph u. Cory 1960).

Zusammenfassung

Im Phloem der ausgewachsenen Blattstiele vom *Heracleum Mantegazzianum* wurde thermoelektrisch eine Massenströmung nachgewiesen; ihre Geschwindigkeit liegt in der Größenordnung von 35—70 cm/Std.

Literatur

Arisz, W. H.: The transport of organic compounds. Ann. Rev. Plant Physiol. **3**, 109—130 (1952).

Bauer, L.: Über den Wanderungsweg fluoreszierender Farbstoffe in den Siebröhren. Planta (Berl.) **37**, 221—243 (1949).

Biddulph, O., and R. Cory: An analysis of translocation in the phloem of the bean plant using THO, P-32 and $C^{14}O_2$. Plant Physiol. **32**, 608—619 (1957).

— Demonstration of two translocation mechanisms in studies of bidirectional movement. Plant Physiol. **35**, 689—695 (1960).

Gage, R. S., and S. Aronoff: Translocation. III. Experiments with Carbon 14, Chlorine 36, and Hydrogen 3. Plant Physiol. **35**, 53—64 (1960).

Huber, B.: Beobachtung und Messung pflanzlicher Saftströme. Ber. dtsch. bot. Ges. **50**, 89—109 (1932).

— E. Schmidt u. H. Jahnel: Untersuchungen über den Assimilatstrom. I. Tharandt. Forstl. Jb. 88, 1017—1050 (1937).

Kamiya, N.: Protoplasmic streaming. In: Protoplasmatologia, Bd. VIII, 3a. Wien: Springer 1959.

Münch, E.: Die Stoffbewegungen in der Pflanze. Jena: Gustav Fischer 1930.

Rouschal, E.: Untersuchungen über die Protoplasmatik und Funktion der Siebröhren. Flora (Jena) **135**, 135—200 (1941).

Schumacher, W.: Untersuchungen über die Wanderung des Fluoreszeins in den Siebröhren. Jb. wiss. Bot. **77**, 685—732 (1933).

Vieweg, G. H., u. H. Ziegler: Thermoelektrische Registrierung der Geschwindigkeit des Transpirationsstromes I. Ber. dtsch. bot. Ges. **73**, 221—226 (1960).

Ziegler, H.: Untersuchungen über die Leitung und Sekretion der Assimilate. Planta (Berl.) **47**, 447—500 (1956).

— Über die Atmung und den Stofftransport in den isolierten Leitbündeln der Blattstiele von *Heracleum Mantegazzianum* Somm. et Lev. Planta(Berl.) **51**, 186—200 (1958).

Prof. Dr. Hubert Ziegler, Botanisches Institut der Technischen Hochschule, Darmstadt, Roßdörferstr. 140

Dr. Georg Heinrich Vieweg, Max Planck-Institut f. Pflanzengenetik, Rosenhof b. Ladenburg a. N.

Planta 56, 409—415 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Stuttgart-Hohenheim (Direktor: Prof. Dr. H. Walter)

Über die gravimetrische Methode zur Bestimmung der Saugspannung und das Problem des negativen Turgors

II. Mitteilung

Die Berücksichtigung von Atmungsverlusten während der Messungen

Von

K. Kreeb und M. Önal

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. November 1960)

A. Einleitung

Bei Untersuchungen, die im Anschluß an die in der I. Mitteilung (vgl. Kreeb 1960) besprochenen Methode zur Bestimmung der Saugspannung der Pflanzen durchgeführt worden sind, stießen wir auf eine Fehlerquelle, die bisher wohl nicht berücksichtigt worden ist. Es handelt sich um *Atmungsverluste*. Diese treten auf, während des Aufenthaltes der Blattproben in den Meßgefäßen. Slatyer (1958) ging auf Grund seiner gut reproduzierbaren Ergebnisse von der Annahme aus, daß Substanzverluste infolge der Atmung bei einer Versuchsdauer bis zu etwa 24 Std keine entscheidende Rolle spielen. Auch die von uns gewonnenen Resultate sprachen zunächst dafür.

Bei Welkungsversuchen mit frisch vom Feld ins Laboratorium gebrachten Kartoffelsprossen zeigte sich aber, daß bei den ersten Messungen trotz der methodischen Verbesserungen, die in der I. Mitteilung beschrieben worden waren (Vermeidung von Transpirationsverlusten und Neukonstruktion des Meßgefäßes) immer wieder Saugspannungen von 0 at oder selbst negative Werte, was naturgemäß widersinnig wäre, gefunden wurden. Wir haben daraufhin versucht, die Größe der Atmungsverluste während der Versuchsdauer festzustellen. Vorversuche nach der Methode Boysen-Jensen (1932; vgl. auch Burcik und Zimmermann 1953) ergaben bereits mit Sicherheit, daß ein gewisser Substanzverlust vorhanden sein muß. Allerdings waren die Streuungen zwischen Parallelproben erheblich. Außerdem zeigten sich Schwierigkeiten bei der Umrechnung von dem aus der Titration gewonnenen CO_2 auf den *tatsächlichen Substanzverlust*, auf den es uns in erster Linie ankam.

Wir haben es deshalb vorgezogen, diesen durch Bestimmung der Trockensubstanz am Anfang und am Ende der Messungen direkt zu kontrollieren. Im folgenden wollen wir besprechen, wie die Methode nunmehr ergänzt werden muß. Ebenso soll an einem Beispiel gezeigt werden, wie der endgültige Saugspannungswert sich aus den einzelnen Messungen errechnen läßt. Wir beschränken uns hier auf unseren Welkungsversuch mit Kartoffeln, dürfen jedoch erwähnen, daß auch bei Untersuchungen, die vor einiger Zeit mit mediterranen Hartlaubpflanzen durchgeführt wurden, Atmungsverluste eine gewisse Rolle spielten. Im Hinblick auf diese Untersuchungen an immergrünen Xerophyten in Spanien haben wir eine vereinfachte Apparatur erprobt.

Wir haben dabei nur *ein* Wasserbad mit etwa 80 Liter Inhalt benützt, in dem eine genügende Temperaturkonstanz erreicht werden konnte bei Verwendung eines empfindlichen Kontaktthermometers, das über ein Relais eine Glühbirne von 100 Watt steuerte. Durch diese Änderungen wurden — wie Kontrollmessungen zeigten — die gemessenen Saugspannungswerte nicht beeinflußt. Die höhere Temperatur des Wasserbades (hier 31,3° C) war notwendig, um ein Temperaturgefälle nach außen hin, auch bei höheren Lufttemperaturen aufrechtzuerhalten. Fehler durch die bei erhöhter Temperatur stärkere Atmung werden mit der hier zu besprechenden methodischen Ergänzung erfaßt.

B. Die Berücksichtigung von Atmungsverlusten während der Bestimmung der Saugspannung von frischen und welkenden Kartoffelblättern

Bei der jetzt von uns angewandten Methode bestehen folgende Arbeitsgänge: 1. Probenentnahme. 2. Bestimmung des Anfangsfrischgewichtes (B_A) und des anfänglichen Trockengewichtes (B_{AT}). 3. Übertragen der Proben Nr. 1—5 in die verschiedenen Meßgefäße mit Lösungen unterschiedlicher Hydratur. 4. Bestimmung des Endfrischgewichtes (B_E) und des Endtrockengewichtes (B_{ET}). 5. Berechnung der Saugspannung.

Die Probenentnahme und -verarbeitung, die rasch erfolgen muß und im allgemeinen darin besteht, daß die Blatteile in kleine etwa 3×8 mm große Stücke zerschnitten werden, führen wir, nach zahlreichen Vorversuchen, bei Kartoffelblättern vorsichtshalber folgendermaßen durch (Abb. 1): 10 Fiederblätter werden nebeneinander gelegt. Von den Blättchenhälften entnimmt man mit einem Korkbohrer (⌀ 0,8—1 cm) Scheiben, und zwar so, daß nur Sekundärrippen getroffen werden. Diese sollen etwa die Mittellinie der Blattscheiben bilden und gleichgerichtet verlaufen. Nur so wird gewährleistet, daß beim jetzt folgenden Halbieren dieser übereinanderliegenden Blattscheiben (quer zu den Sekundärrippen) etwa gleich viel Leitbündelgewebe auf die beiden Hälften kommt. Bei Kartoffeln ist dies wichtig, da die nach unten hervorstehenden Blattrippen einen relativ großen Anteil des Blattgewebes bilden und bei ungleicher Verteilung zu Streuungen bei der Bestimmung der Trockensubstanz (B_{AT} und B_{ET}) führen.

Die auf diese Weise gewonnenen halbierten Blattscheiben kommen nun in die Probeschälchen aus Messing, die ihrerseits gleich anschließend in kleine Wägegläser gestellt werden. Die einen Hälften der mit dem Korkbohrer ausgestanzten 5×10 Blattscheiben werden nach der Feststellung des Ausgangsgewichtes zunächst

zur gravimetrischen Bestimmung der Saugspannung verwendet, später weiterverarbeitet zur Gewinnung des Endtrockengewichtes (bei 108° C im Trocken-

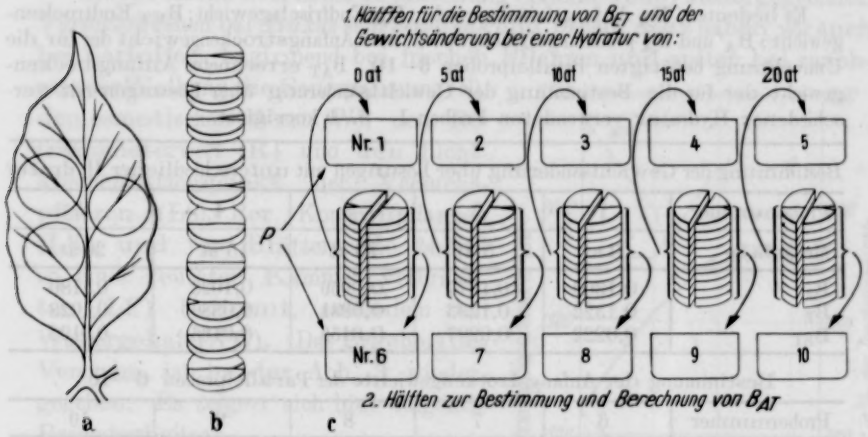


Abb. 1a—c. Verarbeitung der Proben zur Bestimmung der Saugspannung. a Stellen, von welchen Blattscheiben bei den einzelnen Fiederblättchen ausgestanzt worden sind; b Orientierung der 10 Blattscheiben; c Schema der Versuchsdurchführung. *p* Probeschälchen

schrank bis zur Gewichtskonstanz). Die anderen Hälften der Blattstücke kommen nach der Wägung sofort zur Trocknung. Ihr Trockengewicht dient für die Berechnung des Anfangstrockengewichtes der Proben Nr. 1—5, die in unserem Fall bei 0, 5, 10, 15 und 20 at für die Zeit des Versuches in den Meßgefäßen verbleiben.

Aus der folgenden Tabelle 1 sind die für einen Versuch notwendigen Wägungen zu ersehen und die Art der Berechnung. Es handelt sich dabei um die Bestimmung der Saugspannung von frischen Kartoffelblättern am 13. 7. 60. Die Versuchsdauer betrug 5 Std.

Das Ergebnis der Brüche $B_{E\,k}/B_A$ (Endgewicht korrigiert) bzw. B_E/B_A (Endgewicht nicht korrigiert) ist in Abb. 2 aufgezeichnet. Wäre bei dieser Messung der Atmungsverlust unberücksichtigt geblieben, so läge die gefundene Saugspannung zwar nicht unter 0, aber doch nur bei etwa 1,0 at. Nach der Atmungskorrektur ergibt sich, wenn man die ersten 4 Meßpunkte verbindet, eine Gerade. Sie schneidet die

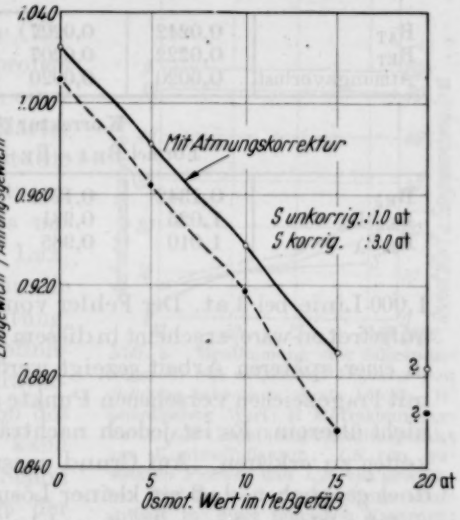


Abb. 2. Diagramm zur Bestimmung der Saugspannung mit und ohne Atmungskorrektur. Wasserbad 31,3° C

Tabelle 1. *Die für die Bestimmung der Saugspannung notwendigen Arbeitsgänge, Wägungen und Berechnungen.* Gewichte in Gramm

Es bedeuten: B_A Anfangsfrischgewicht; B_E Endfrischgewicht; B_{ET} Endtrockengewicht; B_A' und B_{AT}' Anfangsfrischgewicht und Anfangstrockengewicht der für die Umrechnung benötigten Parallelproben 6—10. B_{AT} errechnetes Anfangstrockengewicht der für die Bestimmung der Gewichtsänderung über Lösungen mit verschiedener Hydratur verwendeten Proben 1—5. k korrigiert.

Bestimmung der Gewichtsänderung über Lösungen mit unterschiedlicher Hydratur

Probenummer	1	2	3	4	5
Meßgefäße	0 at	5 at	10 at	15 at	20 at
B_A	0,1309	0,1277	0,0959	0,1026	0,1186
B_E	0,1322	0,1233	0,0881	0,0880	0,1028
B_{ET}	0,0222	0,0207	0,0156	0,0166	0,0196

Bestimmung der Anfangstrockengewichte der Parallelproben 6—10

Probenummer	6	7	8	9	10
B_A'	0,1037	0,0840	0,1067	0,1388	0,1231
B_{AT}'	0,0192	0,0150	0,0197	0,0270	0,0229

Berechnung des Anfangstrockengewichtes der Proben 1—5:

Formel: $B_{AT} = \frac{B_{AT}'}{B_A'} \times B_A$

B_{AT}	0,0242	0,0227	0,0176	0,0199	0,0220
B_{ET}	0,0222	0,0207	0,0156	0,0166	0,0196
Atmungsverlust	0,0020	0,0020	0,0020	0,0033	0,0024

Korrektur (k) von B_E

Formel $B_E k = B_E +$ Atmungsverlust

$B_E k$	0,1342	0,1253	0,0901	0,0913	0,1052
$B_E k / B_A$	1,025	0,981	0,939	0,890	0,887
B_E / B_A	1,010	0,965	0,918	0,857	0,867

1,000-Linie bei 3 at. Der Fehler von 2,0 at, der ohne Atmungskorrektur aufgetreten wäre, erscheint in diesem Fall erträglich. Er kann jedoch — wie in einer späteren Arbeit gezeigt werden soll — größer sein. Die beiden mit Fragezeichen versehenen Punkte stimmen mit der gefundenen Kurve nicht überein. Es ist jedoch nachträglich schwierig, solche Unstimmigkeiten zu erklären. Auf Grund unserer Erfahrung kann es gelegentlich doch geschehen, daß ein kleiner Lösungstropfen zufällig und unbemerkt auf die Blattproben gelangt und bei der Endwägung mitgewogen wird. Einzelne ganz aus der Reihe fallende und dem Kurvenverlauf widersprechende Punkte lassen wir stets unberücksichtigt. Grundsätzlich ist die Saugspannungs-Bestimmung für um so sicherer anzusehen, je weniger die einzelnen Meßpunkte von der zu zeichnenden Kurve abweichen.

C. Welkungsversuch bei *Kartoffeln*

Entsprechend den in der I. Mitteilung (KREEB 1960) wiedergegebenen Versuchsreihen bei *Buxus sempervirens* und *Hedera helix* haben wir auch bei Kartoffeln, beginnend bei frischen Pflanzen und später bei zunehmender Welkung, die Saugspannung (S), den osmotischen Wert (W), den Refraktometerwert (R) und den Lichtkompensationspunkt der Versuchspflanzen (LS), der Kontrollpflanzen (LK), und von Blättern die 24 Std in einer feuchten Kammer verbrachten (LF) bestimmt, außerdem den Wassergehalt (WG). Das Ergebnis des Versuchs ist in der Abb. 3 wiedergegeben. Es zeigen sich hier folgende Besonderheiten:

1. Der Wassergehalt nimmt während des Welkungsvorganges sehr rasch ab und zwar von 440% des Trockengewichtes auf 250% nach 3 Tagen.

2. Schon am 4. Tage ist die CO_2-Bilanz der gewelkten Pflanzenproben und der anschließend 24 Std in einer feuchten Kammer gehaltenen Blätter negativ. Besonders auffallend ist die Tatsache, daß LF im Gegensatz zu den bisherigen Ergebnissen stets ungünstiger liegt, also bei höheren Lux-Werten als LS. Dies spricht für die hier allgemein gemachte Beobachtung, daß Kartoffelblätter überaus empfindlich sind gegenüber einer Hydraturabnahme. Von einer Regeneration des photosynthetischen Apparates kann hier nicht gesprochen werden. Schon bei Beginn der Welkung steigt der Kompensationspunkt stark an im Gegensatz zu den Kontrollen, bei welchen sogar eine günstige Wirkung auf die CO_2-Bilanz während des Aufenthaltes der Pflanzen im Laboratorium beobachtet werden konnte.

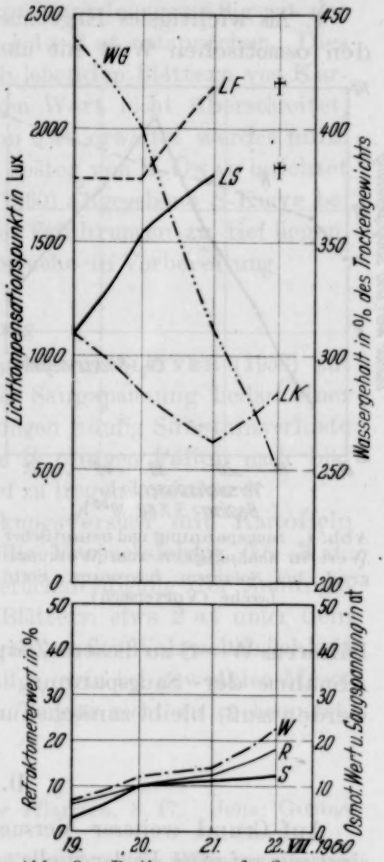


Abb. 3. Bestimmung der Saugspannung (*S*) bei welkenden Blättern von *Solanum tuberosum*, Sorte Lerche. *W* osmotischer Wert; *R* Refraktometerwert; *LK* Lichtkompensationspunkt von Kontrollpflanzen; *LS* von gewelkten Proben und *LF* von gewelkten Proben nach 24stündigem Aufenthalt in einer feuchten Kammer; *WG* Wassergehalt

3. Refraktometerwert und osmotischer Wert gehen in etwa parallel. Dies darf wohl als allgemein gültig angesehen werden, so lange nur

Wassergehaltsänderungen vorliegen. Dafür spricht auch ein von uns durchgeführter Modellversuch mit verschieden stark verdünntem Pflanzenzellsaft, worüber jedoch erst später in anderem Zusammenhang berichtet werden soll.

4. Als wichtigstes Ergebnis zeigt sich hier, daß die Saugspannung den osmotischen Wert nie überschreitet. Ein negativer Turgordruck ist — wie zu erwarten — nicht aufgetreten. Die Saugspannungswerte bleiben sogar grundsätzlich etwas tiefer als die osmotischen Werte, und zwar etwa 2 at am 2. und 3. Tag. Ob dieser Unterschied als gesichert angesehen werden kann, erscheint uns bei solch niedrigen Werten sehr fraglich zu sein. Bei dem zuerst durchgeführten Vorversuch (vgl. Abb. 4) überschritt die S-Kurve bei der 4. Messung den osmotischen Wert um etwa 2 at; nachdem jedoch die CO_2-Bilanz negativ geworden war, sank auch hier die Saugspannung wieder beträchtlich ab und lag dann etwa 6 at tiefer als der osmotische Wert. Im Hauptversuch betrug die Differenz W—S zu diesem Zeitpunkt etwa 9 at. Worauf diese (relative) Abnahme der Saugspannung am Ende der Versuche zurückgeführt werden muß, bleibt zunächst ungeklärt.

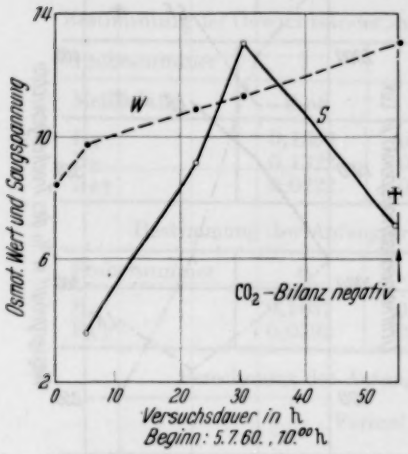


Abb. 4. Saugspannung und osmotischer Wert in Abhängigkeit vom Welkungsgrad bei *Solanum tuberosum*, Sorte Lerche (Vorversuch)

D. Diskussion

Auf Grund weiterer Versuche zur Bestimmung der Saugspannung sind wir auf eine Fehlerquelle gestoßen, die in einigen Fällen, besonders bei kleineren Saugspannungswerten, eine Rolle spielt: Atmungsverluste während der Bestimmungen. Bleiben sie unberücksichtigt, so erhält man mit unserer Methode unter Umständen zu tiefe Werte, ähnlich wie vor den von uns früher vorgeschlagenen Verbesserungen. Nicht immer ist jedoch ein Substanzverlust feststellbar; das gilt z. B. für *Buxus sempervirens* (Kreeb 1960, Abb. 5), wie eine Nachprüfung später gezeigt hat. Die bei dem hier besprochenen Versuch anzubringende Korrektur des Saugspannungswertes belief sich auf 2 at, sie kann jedoch — wie bereits erwähnt — wesentlich höher liegen. Bei Saugspannungswerten unter 10 at spielt naturgemäß ein zusätzlich, einseitig gerichteter Fehler von wenigen at eine größere Rolle als bei höherer Saugspannung. Da

von vornherein nicht abgeschätzt werden kann, wie groß die Atmungskorrektur sein wird, muß die Methode zur Bestimmung der Saugspannung mit Trockengewichtsbestimmungen gekoppelt werden. Nach Einführung der Atmungskorrektur darf angenommen werden, daß die nun erhaltenen Werte den tatsächlichen größenordnungsmäßig mit der von uns angegebenen Genauigkeit von $\pm$ 1—2 at entsprechen. Dies zeigt vor allem die Tatsache, daß bei noch lebenden Blättern von Kartoffeln die Saugspannung den osmotischen Wert nicht überschreitet, wie es auf Grund eines Turgordruckes von 0 at erwartet werden muß. Über ähnliche Ergebnisse bei Weizen wird später von M. Önal berichtet werden. Die in der I. Mitteilung (Kreeb 1960) angegebene S-Kurve bei *Hedera helix* kann auf Grund der jetzigen Erfahrungen zu tief liegen. Zur Klärung dieser Frage sind weitere Versuche in Vorbereitung.

Zusammenfassung

1. Die von Kreeb (1960) vorgeschlagene auf Slatyer (1958) zurückgehende Methode zur Bestimmung der Saugspannung bedarf einer Atmungskorrektur, da während der Messungen häufig Substanzverluste auftreten, wodurch die erhaltenen Werte in einigen Fällen nach bisherigen Erfahrungen um mehrere at zu tief zu liegen kommen.

2. Bei dem hier besprochenen Welkungsversuch mit Kartoffeln beträgt der durch Veratmung festgestellte Versuchsfehler 0,5—3 at. Die Saugspannungswerte bleiben nach Berücksichtigung der Atmungskorrektur bei noch lebenden, gewelkten Blättern etwa 2 at unter dem osmotischen Wert. Diese Differenz liegt mit großer Wahrscheinlichkeit noch innerhalb der Versuchsfehler, so daß — wie bei gewelkten Mesophytenblättern zu erwarten — mit einem Turgor nicht zu rechnen ist.

Literatur

Boysen-Jensen, P.: Die Stoffproduktion der Pflanzen, S. 17. Jena: Gustav Fischer 1932.

Burcik, E., u. W. Zimmermann: Über die CO_2-Entbindung des Pflanzenmaterials bei der Heubereitung. Ber. dtsch. bot. Ges. **66**, 297—302 (1953).

Kreeb, K.: Über die gravimetrische Methode zur Bestimmung der Saugspannung und das Problem des negativen Turgors. I. Mitt. Planta (Berl.) **55**, 274—282 (1960).

Slatyer, R. O.: The measurement of diffusion pressure deficit in plants by a method of vapor equilibration. Aust. J. biol. Sci. **2**, 349—365 (1958).

Priv.-Dozent Dr. K. Kreeb,
Botanisches Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim
Stuttgart-Hohenheim

Planta 56, 416—437 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

VERSUCHE ZUR ANALYSE DER GEOTROPISCHEN PERZEPTION

II. Mitteilung

DIE VERÄNDERUNG DER OSMOTISCHEN SAUGKRAFT IM SCHWEREFELD

Von

L. Brauner und M. Brauner

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 19. Dezember 1960)

Einführung

Bei der Suche nach den primären physiologischen Veränderungen, welche die Schwerkraft in geotropisch empfindlichen Pflanzenorganen auslöst, hat man schon seit langem auch an eine Beeinflussung der osmotischen Zustandsgrößen gedacht. Zunächst wurde geprüft, ob sich der osmotische *Wert* im gereizten Organ ändert. Kraus (1880) fand in verschiedenen Sproßorganen nach Horizontalstellung eine allgemeine Erhöhung des Zuckerspiegels, vor allem aber in der Unterhälfte. Er vermutete, daß dadurch eine transversale Wasserverschiebung nach der Unterseite eingeleitet würde, die zu einer asymmetrischen Steigerung des Turgors und damit zur ersten Phase der Aufkrümmung führen könnte. — Schley (1920) glaubte zeigen zu können, daß an dieser Anatonose lediglich hydrolysierbare Zucker beteiligt seien, die in der Organunterseite durch Abbau von Polysacchariden entstehen sollen. — Warner (1928), Metzner (1934) und neuerdings Ziegler (1951) fanden dagegen eine Differenz an reduzierenden Zuckern zwischen Ober- und Unterseite. Die ersten meßbaren Konzentrationsunterschiede wurden nach 1stündiger Expositionszeit beobachtet, also etwa gleichzeitig mit dem Sichtbarwerden der geotropischen Aufkrümmung. Die osmotische Auswirkung dieses Effektes ist jedoch recht gering, da die reduzierenden Zucker nur zu etwa 10—15% am osmotischen Gesamtwert „O" des Zellsafts der untersuchten Organe beteiligt sind. Metzner beobachtete bei kryoskopischen Messungen der Zellsaftkonzentration an stundenlang in Zwangslage exponierten *Helianthus*-Hypokotylen in der Unterhälfte einen Anstieg von etwa $^1/_5$ Atm., in der Oberhälfte von nur $^1/_8$ Atm. — Mehrere Autoren untersuchten den osmotischen Wert „O" von Wurzeln nach geotropischer Induktion durch Bestimmung der Grenzplasmolyse (Tröndle 1917, Ursprung u. Blum 1924, Overbeck 1926). Ein meßbarer Unterschied im O-Wert der opponierten Flanken wurde von ihnen

niemals aufgefunden, ebensowenig eine Veränderung gegenüber den vertikalen Kontrollpflanzen. Wohl aber ergaben sich aus den Messungen von URSPRUNG u. BLUM und von OVERBECK sehr erhebliche Unterschiede in der *Saugkraft* der Ober- und der Unterseite. Nach dem Einsetzen der geotropischen Krümmung wurden Differenzen von 7—8 Atm. zugunsten der Konvexflanke festgestellt.

Aus diesen Ergebnissen wurde schon von den ersten Beobachtern der naheliegende Schluß gezogen, daß der drastische Geo-Saugkrafteffekt einer primären Veränderung der Wanddehnbarkeit zuzuschreiben sei.

Alle diese Erfahrungen beziehen sich ausschließlich auf den Wachstumsgeotropismus. In Variationsgelenken ruft geotropische Induktion primär die bei wachsenden Organen vermißte antagonistische Veränderung des osmotischen Wertes offenbar hervor (ZIMMERMANN 1929, ARSLAN 1949). Eine Analyse dieses Problems liegt jedoch außerhalb des Rahmens der gegenwärtigen Untersuchung.

Die wenigen bisher vorliegenden Angaben über Geo-Saugkraftreaktionen beschränken sich auf die Feststellung des Effekts an Keimwurzeln in verhältnismäßig fortgeschrittenen Stadien der geotropischen Krümmung. Es war daher noch nicht zu entscheiden, ob der beobachtete Effekt die gesuchte physiologische Primärursache der Reizbewegung ist, oder ob er nur eine Folgeerscheinung der induzierten Wachstumsasymmetrie darstellt.

In der vorliegenden Arbeit soll daher zunächst der Einfluß der Präsentationsdauer auf das Zustandekommen der Geo-Saugkraftreaktion (GSR) studiert werden. Dabei wird auch über das Verhalten der Versuchspflanzen auf dem Klinostaten zu berichten sein. Ferner war zu untersuchen, ob der Effekt rein physikalisch oder metabolisch induziert wird. Einige Hinweise darüber ließen sich aus Versuchen bei Exposition unter Wasser und im O_2-freien Raum gewinnen. In diesem Zusammenhang wurde auch der Einfluß spezifischer Atmungsinhibitoren geprüft. Schließlich war es wichtig, die Rolle des endogenen Auxins bei der Entstehung der GSR kennenzulernen. — Über die Beteiligung der beiden Bestimmungsfaktoren der Saugkraft an der Entstehung der GSR wird in einer folgenden Mitteilung ausführlich berichtet werden.

Material und Methodik

a) Anzucht und Vorbereitung der Pflanzen. Alle Versuche dieser Arbeit wurden an Keimpflanzen von *Helianthus annuus* „v. Boguslawskis Frühe" ausgeführt[1]. Nach gleicher Größe ausgelesene Körner wurden in großen Petri-Schalen auf feuchtem

[1] Für die Lieferung des Saatguts sind wir dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Gießen zu Dank verpflichtet.

Filterpapier zum Keimen ausgelegt, zunächst 24 Std bei Zimmertemperatur, sodann 12 Std im Thermostaten bei 28° C. Die nach dieser Zeit gekeimten Körner wurden in kleine, mit Gartenerde gefüllte Glasröhrchen (20 × 40 mm) eingepflanzt und in einer Anzuchtkammer bei künstlichem Licht (Osram-Tageslichtleuchtstoffröhren L, 40 W, 21/R, 4500 Lux) und konstanter Feuchtigkeit (70%) $4^1/_2$ Tage lang bei einer Licht-Dunkelperiode von 14 Std/10 Std weiterkultiviert. Die Temperatur betrug 20—21° C. Die für die Versuche ausgewählten Pflanzen waren demnach, vom Zeitpunkt des Ankeimens gerechnet, 6 Tage alt. Ihre Hypokotyle hatten dann eine Länge von etwa 50 mm. — Für Versuche, in denen das Verhalten von wuchsstoffverarmten Pflanzen untersucht werden sollte, wurden 6 Tage alte Keimlinge knapp unterhalb der Ansatzstelle der Kotyledonen mit einer Rasierklinge dekapitiert. Nach den Erfahrungen einer früheren Arbeit (Brauner u. Hager 1958) beträgt die günstigste Verarmungsdauer etwa 4 Tage. Dementsprechend wurden die Pflanzen auch jetzt wieder 4 Tage vor ihrer Verwendung dekapitiert und während der Wartezeit in einem Dunkelthermostaten bei 20° C und 85% rel. Feuchte aufbewahrt. — Zur geotropischen Exposition wurden die mit ihren Anzuchtgläschen an einem geeigneten Metallstativ befestigten Pflanzen im Dunkelthermostaten parallel zur Kotyledonarebene horizontal gestellt. Kamen intakte Pflanzen aus der Lichtkammer zur Verwendung, so wurden sie vor dem Versuch zur Adaptation zunächst 1 Std vertikal im Dunkelthermostaten belassen.

b) Methode der Saugkraftbestimmung. Zur Ermittlung der Saugspannung bewährte sich am besten die gravimetrische Methode (vgl. Brauner, Brauner u. Hasman 1940). Von den zu untersuchenden Hypokotylen wurde stets die oberste 20 mm-Zone zur Messung verwendet. Die Zylinder wurden zunächst mittels eines schlittenmikrotomartigen Geräts in der Kotyledonarebene so gleichmäßig wie möglich halbiert. Je 10 Spaltstücke wurden sodann, nach Ober- und Unterhälften getrennt, in kleine Wägegläschen eingebracht und auf einer automatischen Analysenwaage ausgewogen. Als Kontrollen dienten die morphologisch entsprechenden Spalthälften von vertikal verbliebenen Pflanzen.

Die ausgewogenen Hälften wurden nunmehr auf eine meist 5stufige Mannit-Konzentrationsreihe von 0,00—0,25 mol (entsprechend 0,00—5,65 Atm./0° C) verteilt. Für jede Stufe wurden 20 cm^3 Lösung bzw. Wasser verwendet; die eingebrachten Proben wogen etwa 400 mg. — Nach 60 min Verweilen in den mehrmals gerührten Lösungen wurden die Spalthälften mit Zellstoffwatte sorgfältig abgetrocknet und erneut gewogen. Aus den so ermittelten prozentualen Gewichtsänderungen wurde schließlich die Saugkraft graphisch ermittelt. Jeder Versuch wurde in der Regel 5mal wiederholt, die angegebenen Mittelwerte gründen sich demnach meistens auf je 50 Versuchspflanzen.

c) Berechnung der Ergebnisse. Da die miteinander zu vergleichenden Messungen sich über fast 2 Jahre erstreckten, war mit erheblichen jahreszeitlichen Schwankungen der unmittelbar bestimmten Atmosphärenwerte zu rechnen. Um aus ihnen dennoch verläßliche Vergleichsgrößen gewinnen zu können, wurden aus den einander unmittelbar zugeordneten Werten die maßgebenden Quotienten „Q" $Saugkraft_{Unterhälfte}$ / $Saugkraft_{Oberhälfte}$, beziehungsweise $Saugkraft_{exponiert}$ / $Saugkraft_{vertikal}$ mit ihren mittleren Fehlern „σ" berechnet. Ferner wurden die zu einer größeren Versuchsreihe gehörigen Meßpunkte möglichst „verschränkt" ermittelt, etwa bei der Bestimmung der Zeitkurve der Schwerkraftwirkung in ungerichteter Aufeinanderfolge der verschiedenen Expositionszeiten. In Versuchsreihen, in denen negative Saugkraftwerte der vertikalen Kontrollen eine Quotientenbildung ausschlossen, wurde stattdessen als Maß der Reaktion die Differenz zwischen den zu vergleichenden Saugkräften gewählt.

Ergebnisse

1. Das Grundphänomen

Zuerst wurde untersucht, welchen Einfluß eine kurzdauernde, aber geotropisch bereits wirksame Horizontallage auf die Höhe und die Verteilung der Saugspannung im exponierten Hypokotyl ausübt. Einen sehr charakteristischen Effekt ergab bereits eine Induktionszeit von 5 min. Abb. 1 zeigt den Verlauf der Bestimmungskurven der Saugkraft der Ober- und der Unterhälfte („o" bzw. „u") des exponierten Organs, und zum Vergleich den der Saugkraft von gleichzeitig geprüften Vertikalkontrollen („v"). Die 3 Kurven, die aus den Mittelwerten von je 5 Einzelversuchsreihen gewonnen wurden, zeigen einen sehr regelmäßigen, fast parallelen Abfall in verschiedenem Abstand. Aus ihren Schnittpunkten mit der Konzentrationsabszisse ergaben sich die folgenden Saugkraftwerte:

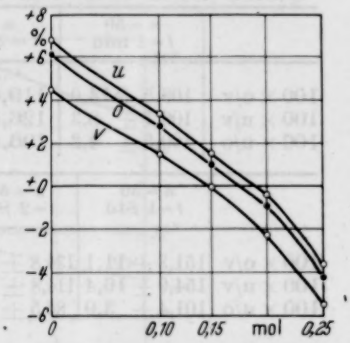


Abb. 1. Bestimmungskurven der Saugkraft nach 5 min langer geotropischer Induktion. Abszisse: Mannit-Konzentrationen in mol; Ordinate: Gewichtsänderung in Prozenten des Ausgangswertes nach 1 Std Aufenthalt in der Meßlösung. *u* Unterhälfte; *o* Oberhälfte; *v* Vertikalkontrollen

Atm. (0° C)	Saugkraftdifferenzen
v: 3,29	o—v: 0,67 Atm.
o: 3,96	u—v: 0,92 Atm.
u: 4,21	u—o: 0,25 Atm.

Es zeigt sich also, daß bereits eine 5 min lange Induktion einen meßbaren Anstieg der Saugkraft über ihren Vertikalwert hervorruft. Dieser Effekt äußert sich stärker in der Unterhälfte des Hypokotyls als in dessen Oberhälfte. Sein Ausmaß läßt sich noch besser beurteilen, wenn aus den in jedem Einzelversuch ermittelten Atmosphärenwerten die Quotienten o/v, u/v und u/o mit ihren mittleren Fehlern berechnet werden:

$$100 \times o/v: 121{,}8 \pm 3{,}4$$
$$100 \times u/v: 130{,}0 \pm 4{,}7$$
$$100 \times u/o: 106{,}7 \pm 1{,}9$$

Diese Vergleichszahlen zeigen, daß die Horizontalstellung die Saugkraft in der Organunterseite um 30%, in der Oberseite um 21,8% anwachsen ließ. Verglichen mit der ansehnlichen Erhöhung der Saugkraft im gesamten induzierten Organ ist also die polarisierende Wirkung der Schwerkraft auf die Saugkraftverteilung verhältnismäßig schwach. Der prozentuale Unterschied beträgt nur 6,7% zugunsten der Unterseite. Trotz seines geringen Ausmaßes ist jedoch auch dieser Effekt statistisch gut gesichert.

2. Einfluß der Induktionszeit

Nach dem gleichen Prinzip wurde nunmehr untersucht, wie die Ausbildung der Geo-Saugkraftreaktion „GSR" von der Dauer der geotropischen Induktion beeinflußt wird. Es wurden Präsentationszeiten von 1 min bis 6 Std geprüft. Tabelle 1 und Abb. 2 zeigen das Ergebnis.

Tabelle 1. *GSR und Reizdauer.* Verhältnis der Saugkraftwerte o/v, u/v und u/o nach den angegebenen Präsentationszeiten „t". n = Zahl der Versuchspflanzen. T = 20° C, rel. Feuchte etwa 80%

	$n=50$ $t=1$ min	$n=50$ $t=2{,}5$ min	$n=48$ $t=5$ min	$n=50$ $t=10$ min	$n=50$ $t=30$ min
100 × o/v	108,5 ± 14,0	119,6 ± 9,4	121,8 ± 3,4	129,7 ± 11,8	158,7 ± 9,1
100 × u/v	106,7 ± 8,3	126,5 ± 6,9	130,0 ± 4,7	135,0 ± 10,5	163,0 ± 9,2
100 × u/o	100,5 ± 4,2	106,5 ± 2,6	106,7 ± 1,9	104,6 ± 1,6	102,8 ± 1,6

	$n=50$ $t=1$ Std	$n=50$ $t=2$ Std	$n=50$ $t=4$ Std	$n=60$ $t=6$ Std	Saugkr. diff. $t=30$ min
100 × o/v	151,3 ± 11,1	134,8 ± 10,6	117,5 ± 2,7	109,4 ± 11,8	o—v: 1,58 Atm.
100 × u/v	154,9 ± 16,4	114,8 ± 7,5	92,9 ± 5,5	88,7 ± 9,8	u—v: 1,69 Atm.
100 × u/o	101,4 ± 3,9	85,5 ± 1,5	79,2 ± 5,3	82,9 ± 7,2	u—o: 0,11 Atm.

Aus dieser Versuchsreihe wird deutlich, daß die Saugkraft in beiden Flanken des induzierten Hypokotyls während der ersten Phase der Reizung rapide zunimmt, und zwar in der Unterhälfte stärker als in der Oberhälfte. Nach 30 min hat dieser Effekt in beiden Hälften bereits sein Maximum erreicht, die Saugkraft liegt jetzt in der Oberhälfte 58,7%, in der Unterhälfte 63,0% über dem Ausgangswert. Bei noch längeren Expositionszeiten gleicht sich dieser Anstieg jedoch wieder aus. Da der nunmehr einsetzende Saugkraftabfall sich in der Unterseite beträchtlich stärker auswirkt, verschwindet der anfängliche Unterschied allmählich. Um die 70. min liegt das Saugpotential in beiden Hälften bereits gleich hoch, aber noch etwa 49% über dem Wert der vertikalen Kontrollen. Im weiteren Verlauf kehrt sich das Saugkraftverhältnis jedoch in drastischer Weise um. Da der Abfall in der Unterhälfte auch weiterhin beträchtlich steiler verläuft, erreicht deren Saugkraft nach 3 Std bereits den Ausgangswert, während die Saugkraft der Oberhälfte zur gleichen Zeit noch etwa 24% darüber liegt. Schließlich sinkt das Saugpotential der Unterseite unter den Wert der Kontrollen, während das der Oberseite diesen selbst nach 6 Std noch um mehr als 9% übertrifft.

Es sei noch darauf hingewiesen, daß die zur Messung verwendete obere 20 mm-Zone des Hypokotyls erst nach 4 Std senkrecht aufgerichtet war. Die zweite, inverse Phase der Saugkraftasymmetrie setzt also schon lange vor diesem Zeitpunkt ein (vgl. Abb. 2).

Von wesentlicherem Interesse für unser eigentliches Problem ist jedoch die Anfangsphase der GSR. Bereits nach einer Expositionszeit von 1 min erscheint der mittlere Saugkraftwert im Hypokotyl leicht erhöht. Die hier gemessenen Differenzen sind allerdings statistisch noch nicht gesichert. Nach $2^1/_2$ min dagegen hat sich die Reaktion schon erheblich verstärkt. Der Anstieg der Saugkraft beträgt dann in der Unterhälfte bereits 26,5%, in der Oberhälfte 19,6%. Der erste Wert ist mit 3,8 σ, der zweite mit 2,1 σ gesichert. Der Unterschied zwischen den Saugkräften der opponierten Hälften nähert sich nach dieser kurzen

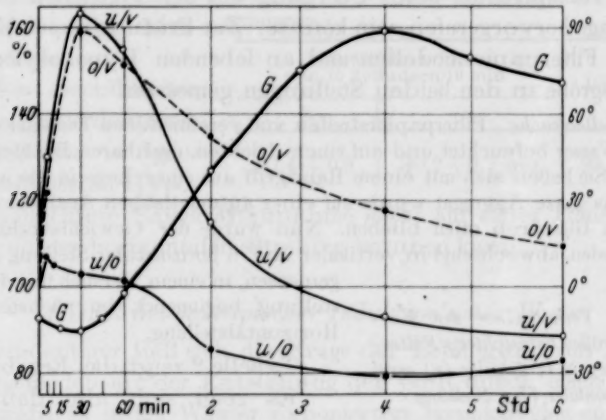


Abb. 2. Einfluß der Induktionszeit auf die GSR. Die Kurve „G" zeigt zum Vergleich den zeitlichen Verlauf der geotropischen Aufkrümmung. Abszisse: Induktionszeit; linke Ordinate: Größe der Quotienten 100 × u/v, 100 × o/v und 100 × u/o. Rechte Ordinate: Winkelgrade

Induktionszeit bereits seinem Höchstwert, die statistische Sicherung des Quotienten u/o entspricht 2,5 σ. — Die Saugkraftverhältnisse nach 5 min Induktion sind schon besprochen worden (vgl. S. 419). Zu diesem Zeitpunkt erreicht der Quotient u/o seinen höchsten Wert, 106,7 $\pm$ 1,9, und seine statistische Sicherung ist hier auch bei weitem am besten (3,5 σ).

Es sei nun daran erinnert, daß der Schwellenwert der geotropischen Induktion unserer Versuchspflanzen bei etwa 2 min liegt (vgl. Brauner u. Hager 1958, S. 118). Das Maximum der in den eben geschilderten Versuchen beobachteten Saugkraftasymmetrie zugunsten der Unterseite des Organs tritt also im gleichen Zeitraum auf. Daraus geht hervor, daß die erste Phase der GSR keineswegs eine sekundäre Folge der induzierten Krümmungsbewegung sein kann. Sie scheint vielmehr eine der primären physiologischen Veränderungen zu sein, die im Hypokotyl von der transversal einwirkenden Schwerkraft ausgelöst werden. Ob sie am Mechanismus der später einsetzenden Wachstumsbewegung beteiligt ist, wird später noch zu erörtern sein.

Bei längeren Expositionszeiten, bis zur 30. min, nimmt zwar die „Gesamtsaugkraft" im Gewebe noch erheblich zu. Da dieser Anstieg in der Oberhälfte jedoch relativ schwächer ist, verringert sich gleichzeitig die transversale Asymmetrie im Organ, der Quotient u/o fällt in dieser Phase von 106,7 bis auf 102,8 ab.

3. GSR und Transpiration

Es lag zunächst nahe daran zu denken, daß die in geotropischer Reizlage beobachtete Saugkraftzunahme durch eine rein physikalische Steigerung der Transpiration beim Übergang aus der vertikalen in die horizontale Lage hervorgerufen sein könnte. Zur Prüfung dieser Möglichkeit wurde an Filterpapiermodellen und an lebenden Hypokotylen die Verdunstungsgröße in den beiden Stellungen gemessen.

a) Modellversuche. Filterpapierstreifen von verschiedenen Dimensionen wurden mit dest. Wasser befeuchtet und auf einem leichten, drehbaren Drahtrahmen festgespannt. Sie ließen sich mit einem Handgriff aus einer Lage in die andere überführen. Das ganze Aggregat wurde auf einer automatischen Analysenwaage montiert, deren Glastüren offen blieben. Nun wurde der Gewichtsverlust während 7 min-Perioden, abwechselnd in vertikaler und in horizontaler Stellung der Streifen gemessen, in einem Versuch mit der Vertikalstellung beginnend, im nächsten mit der Horizontalstellung.

Tabelle 2. *Verhältnisse der Verdunstungsgrößen befeuchteter Filterpapierstreifen in vertikaler (v) und in horizontaler (h) Stellung*

Expositionszeit stets 7 min. T = 22° C, rel. Feuchte etwa 50%.

Dimensionen des Streifens	$100 \times v/h \pm \sigma$
100 × 5 mm	112,79 ± 3,71
100 × 20 mm	108,97 ± 4,26
50 × 50 mm	106,42 ± 4,36

Tabelle 2 zeigt das Ergebnis.

Es zeigt sich also, daß die Verdunstung der Papierstreifen in der *Vertikallage* stets ein höheres Ausmaß erreicht als in der Horizontalstellung. Diese Differenz ist interessanterweise bei den schmäleren Streifen weit größer als bei den breiteren. Das Phänomen erklärt sich vermutlich dadurch, daß die verdunstungshemmenden Dampfkuppen, die das Papier in ruhiger Luft umhüllen, in der Vertikalstellung leichter vom Streifen hochsteigen als in seiner Horizontalstellung. — Einen vergleichbaren Effekt hat auch Renner (1911) an quadratischen Filterpapierstücken beobachtet.

b) Versuche mit Hypokotylen. Nun wurde in gleicher Weise der Transpirationsverlust von abgeschnittenen Hypokotylzylindern in vertikaler und in horizontaler Lage gemessen. Dazu wurden jeweils fünf 40 mm lange, frisch präparierte Stücke in 20 mm-Abstand parallel auf dem Drahtrahmen montiert und sodann auf der Waagschale in den beiden Stellungen je 10 min exponiert (Tabelle 3).

In diesen Versuchen ergab sich praktisch kein Unterschied zwischen den Transpirationsgrößen in der Vertikal- und der Horizontal-

lage. Die Abweichung des Quotienten von Hundert beträgt nur 0,66, ein Wert, der in Anbetracht seines mittleren Fehlers statistisch bedeutungslos ist.

Zum Verständnis dieser Situation sei noch erwähnt, daß die absolute Wasserabgabe des Hypokotyls nur $^1/_{15}$ derjenigen eines feuchten Papierstreifens vom Format 100×5 mm beträgt. Offenbar wird dabei die Ausbildung einer transpirationserniedrigenden Dampfkuppe kaum mehr wirksam.

Tabelle 3. *Verhältnis der Transpirationsgrößen von 40 mm langen Helianthus-Hypokotylzylindern in v- und in h-Stellung*

Expositionszeit stets 10 min. T = 22° C, rel. Feuchte 50%. Mittelwerte aus je 50 Bestimmungen.

Gewichtsverlust von 10 Zylindern/10 min		$100 \times v/h \pm \sigma$
h	v	
$30{,}4 \pm 0{,}9$	$30{,}2 \pm 0{,}7$ mg	$99{,}34 \pm 3{,}89$

Aus den geschilderten Versuchen geht demnach hervor, daß die in geotropisch induzierten Hypokotylen beobachtete Saugkraftzunahme *nicht* auf einer Transpirationssteigerung in der horizontalen Stellung beruhen kann.

4. GSR bei geotropischer Induktion unter Wasser

Noch eindeutiger ließ sich die Frage der Beteiligung von Transpirationsunterschieden an der Entstehung der GSR durch einen Vergleich der Saugkräfte in unter Wasser exponierten Hypokotylen entscheiden.

Dazu wurde zunächst die Erde in den Anzuchtgläschen mit einer dünnen Schicht von niedrig schmelzendem Paraffin abgedeckt. Der eigentliche Versuch wurde sodann in der Dunkelkammer bei schwachem orangem Licht angesetzt. Nach einer $^1/_2$stündigen Adaptationszeit in Luft wurden die Keimlinge mit ihren Gläschen schließlich, in Sätzen von je 10, an beschwerten Stativen befestigt, in ein großes mit dest. Wasser von 20° C gefülltes Aquariumgefäß versenkt. Eine Gruppe von Pflanzen wurde dabei in der Vertikalstellung belassen, eine andere horizontal gelegt. Nach genau 30 min Expositionszeit wurden die Keimlinge aus dem Wasser gehoben, sorgfältig mit Zellstoffwatte abgetrocknet, und schließlich in der früher beschriebenen Weise für die Saugkraftmessung vorbereitet.

Tabelle 4. *GSR submerser Helianthus-Hypokotyle*

Reizdauer 30 min. Saugkraftwerte der Vertikalkontrollen: v; die der Ober- und Unterhälften der exponierten Stiele: o und u. Mittelwerte aus 6 Versuchsserien mit insgesamt 60 Pflanzen. T = 20° C.

Mittlere Saugkraftswerte	Saugkraftdifferenzen	$100 \times$ Quotient $\pm \sigma$[1]	$100 \times$ Quotient in Luft
v: 3,17 Atm.	o—v: 1,17 Atm.	o/v: $137{,}2 \pm 4{,}0$	158,7
o: 4,34 Atm.	u—v: 1,63 Atm.	u/v: $153{,}9 \pm 9{,}2$	163,0
u: 4,80 Atm.	u—o: 0,46 Atm.	u/o: $111{,}9 \pm 4{,}6$	102,8

[1] Berechnet aus den einander zugeordneten Versuchspaaren

Es zeigt sich also, daß die geotropische Induktion auch in den submersen Hypokotylen, also bei völliger Sistierung der Transpiration, zu einer sehr ausgeprägten GSR führt. Trotz des halbstündigen Aufenthalts in Wasser sind die absoluten Werte der Saugkraft noch erstaunlich hoch geblieben, die Wasseraufnahme des Gewebes während der Expositionszeit kann also nur sehr geringfügig gewesen sein. Andererseits hat sich aber eine ansehnliche transversale Saugkraftdifferenz zugunsten der Unterhälfte entwickelt, die sogar merklich größer ist als bei gleich langer Exposition in Luft. Der Gesamtwert des Saugkraftanstiegs im horizontal gelegten Organ ist zwar etwas schwächer als in Luft, er erreicht aber immerhin noch 45,5% (Abb. 3).

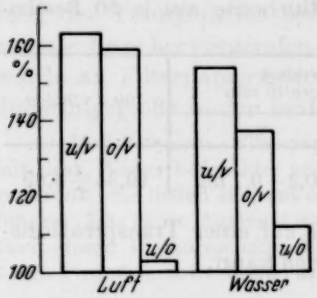


Abb. 3. Die Quotienten der GSR nach 30 min Induktion in Luft und unter Wasser

5. Die GSR bei Rotation auf dem Klinostaten

Da an manchen Objekten Rotation auf dem Klinostaten eindeutige Geowachstumsreaktionen hervorruft (vgl. Larsen 1953, Bara 1957), war es von Interesse zu prüfen, ob sich in horizontal rotierten Hypokotylen auch eine GSR entwickelt.

Versuchsanordnung. Die Keimlinge wurden in Gruppen von je 12 auf einem elektrischen Klinostaten parallel zu dessen horizontaler Achse montiert. Die Rotationsgeschwindigkeit betrug 1 U/75 sec. Der ganze Apparat befand sich in einem Zelt aus Plastikstoff, in dem die Luftfeuchtigkeit durch nasse Tücher auf 85% gehalten war. Die vertikalen Kontrollen standen während der Rotationsdauer des Klinostaten in der gleichen feuchten Kammer.

Ergebnisse. In einer ersten Versuchsreihe wurde die Wirkung einer 30 min langen Rotationsdauer geprüft. Der Effekt bestand wie bei der geotropischen Reizung in einer Erhöhung des Saugpotentials „S" der exponierten Hypokotyle. Im Mittel von 6 Versuchen mit insgesamt 72 Pflanzen verursachte die Rotation eine Zunahme der Saugkraft um 0,38 Atm. gegenüber den Kontrollen. Der Quotient $100 \times S_{rotiert}/S_{vertikal}$ betrug $122{,}8 \pm 6{,}2$.

Bei einer Verlängerung der Rotationszeit auf 3 Std verringerte sich der Effekt wieder erheblich. Die S-Differenz betrug nunmehr nur noch 0,18 Atm., der Quotient der Saugkräfte $110{,}43 \pm 5{,}6$ (Mittel aus 5 Versuchen mit 58 Pflanzen). Eine Deutung dieser GSR wird im zweiten Teil dieser Arbeit versucht werden.

6. Der Sauerstoffbedarf der GSR

Nach den Erfahrungen früherer Beobachter (Correns 1892, Ameijden 1917, Brauner u. Hager 1958) ist die Induktion der geotropischen

Reaktion an die Gegenwart von Sauerstoff gebunden. Es war deshalb wesentlich zu untersuchen, wie sich die GSR in dieser Hinsicht verhält.

Versuchsanordnung. Zur Entfernung des Sauerstoffs wurden die Pflanzen zunächst nach der in unserer früheren Arbeit beschriebenen Methode (BRAUNER u. HAGER 1958, S. 128) senkrecht in eine verschließbare Kammer eingebracht, durch die reines N_2-Gas strömte. Nach einer bestimmten Adaptationszeit wurde der Behälter mit den in ihm befestigten Keimlingen um 90° gekippt, so daß die Pflanzen jetzt horizontal lagen. In dieser Stellung verblieben sie bei fortgesetzter Durchströmung stets 30 min. Zum Vergleich dienten Pflanzen, die ebenso lange in Vertikallage in der Stickstoffkammer belassen worden waren. — Nach dieser Vorbehandlung wurden die Keimlinge in Zimmerluft übertragen und für die Saugkraftmessung vorbereitet. Die Mannit-Konzentrationsreihe war diesmal mit 0,0075 mol Phosphatpuffer von p_H 5,72 als Lösungsmittel angesetzt, da sich gezeigt hatte, daß die N_2-Behandlung den p_H-Wert des Zellsafts um etwa 0,1 Einheiten nach der alkalischen Seite verschiebt.

Ergebnisse. Es wurden drei miteinander unmittelbar vergleichbare Versuchsreihen angesetzt: a) eine Kontrollserie, in der die Pflanzen 30 min lang in Luft horizontal exponiert worden waren; b) und c) 2 Stickstoffserien mit verschieden langer Adaptationszeit (1 Std und 2 Std) in Vertikalstellung zur Entfernung des im Gewebe noch vorhandenen Sauerstoffs. Die anschließende geotropische Exposition betrug auch hier stets 30 min.

Es sei bemerkt, daß sich das Ergebnis der Kontrollversuche in Luft nicht unmittelbar mit den 30 min-Werten der ersten Serie (Tabelle 1) vergleichen läßt, weil die früheren Bestimmungen mit ungepufferten Mannitlösungen ausgeführt worden waren. Der Phosphatzusatz beeinflußt in unseren Versuchen das Gewebe derart, daß die im Puffergemisch gemessenen Saugpotentiale stets merklich erniedrigt erscheinen. Dieser Effekt, der sich besonders stark bei den induzierten Hypokotylen auswirkt, kann keineswegs auf den weit geringeren osmotischen Eigenwert des Puffers zurückgeführt werden. — Über eine Analyse dieses sehr komplexen Verhaltens wird an anderer Stelle berichtet werden. Zunächst liegt die Vermutung nahe, daß das Phosphat die anomale Komponente der Saugkraft beeinflußt.

Tabelle 5. *GSR in Luft und in Stickstoff bei verschieden langer Adaptationszeit, gemessen mit Mannit-Konzentrationsreihen in Phosphatpuffer* (p_H 5,72)

Expositionszeit stets 30 min. n = Zahl der ausgemessenen Versuchspflanzen. Saugkraftwerte der Vertikalkontrollen (v), sowie der Ober- und Unterhälften (o bzw. u) der horizontal exponierten Stiele in Atm. (0° C). T = 20° C.

	n	Atm. (0° C)			100 × Quotienten ± σ[1]		
		v	o	u	u/o	u/v	o/v
a) Luftkontrollen .	50	2,16	3,22	3,33	104,8 ± 2,2	155,1 ± 8,2	148,3 ± 10,3
b) N_2, 1 Std. adapt.	50	2,63	3,31	3,17	96,5 ± 3,6	125,0 ± 11,6	129,1 ± 9,3
c) N_2, 2 Std. adapt.	60	2,56	2,61	2,54	96,9 ± 6,3	102,0 ± 11,4	104,8 ± 7,2

[1] Berechnet aus den einander zugeordneten Versuchspaaren.

Aus diesen Zahlen ist zunächst zu ersehen, daß die Saugkraft der vertikalen Kontrollen durch den Aufenthalt in der N_2-Atmosphäre merklich erhöht wird. Die unmittelbare Ursache dieses Anstiegs dürfte eine beträchtliche Zunahme der Wanddehnbarkeit unter anaeroben Bedingungen sein, ein Effekt, über den in unserer nächsten Mitteilung ausführlich berichtet werden wird.

Wesentlich für unser gegenwärtiges Problem ist aber die Tatsache, daß die Befähigung des Hypokotyls zur GSR nach längerer Anaerobiose allmählich erlischt. Bereits eine 1stündige Adaptationszeit in N_2 reduziert den Anstieg der gesamten Saugkraft in der folgenden Horizontalstellung fast auf die Hälfte des Effekts in Luft, und nach 2stündiger Adaptationszeit ist die Reaktionsfähigkeit des Gewebes schon beinahe aufgehoben (Abb. 4). Die GSR wird also offenbar durch sauerstoffbedürftige Abläufe im Organ bedingt.

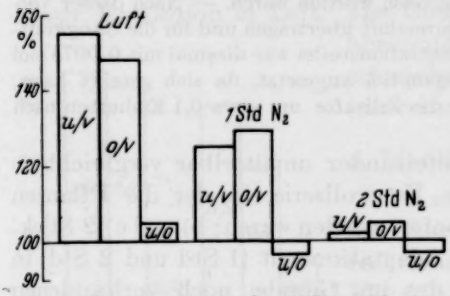


Abb. 4. Die Quotienten der GSR bei 30 min Induktion in Luft und in Stickstoff nach 1 bzw. 2 Std Adaptationszeit in Vertikalstellung

7. Einfluß von Atmungsgiften auf den Saugkraftwert

Die Erfahrung, daß die GSR nur unter aeroben Bedingungen zustande kommt, ließ an eine Beteiligung metabolischer Faktoren an der Veränderung des Saugpotentials im transversalen Schwerefeld denken. Zur Prüfung dieser Möglichkeit wurden in den folgenden Versuchen zur Bestimmung der Saugkraft der aerob induzierten Hypokotyle und der vertikalen Kontrollen Mannit-Konzentrationsreihen verwendet, denen spezifische Atmungsinhibitoren zugesetzt waren. Zum Ausgleich der durch sie verursachten p_H-Veränderungen wurden alle Lösungen wieder mit 0,0075 mol Phosphatpuffer bereitet. Die p_H-Werte sämtlicher Gemische konnten dadurch im Bereich von 5,54—5,58 gehalten werden.

a) Versuche mit Dinitrophenol. In der ersten Versuchsreihe dieser Art wurde als Atmungsgift 5×10^{-5} mol 2,4-Dinitrophenol (DNP) verwendet, das die Phosphorylierung vom Elektronentransport entkoppelt und damit die Übertragung der Atmungsenergie auf andere Stoffwechselvorgänge inhibiert.

Zunächst wurde geprüft, ob DNP unter den Bedingungen des Versuchs in wirksamer Menge in das Gewebe der Hypokotylzylinder eindringt. Dazu wurden Spalthälften von ungereizten Hypokotylen 1 Std lang in der gepufferten DNP-Lösung belassen, sodann mit Zellstoffwatte abgetrocknet, gewogen und schließlich in reine Pufferlösung desselben

p_H-Wertes übertragen. Die Kontrollpflanzen verblieben die gleiche Zeit in reiner Pufferlösung. Nach 1stündigem Verweilen im zweiten Bad wurden die Proben abermals gewogen.

Ein Vergleich der Gewichtszunahme in den beiden Versuchsreihen zeigt deutlich eine beträchtliche Reduktion der Wasseraufnahme durch das DNP:

	Vorbehandelt	
	mit DNP	ohne DNP
Gewichtszunahme . . .	0,10%	1,76%

Sehr drastisch äußerst sich die Nachwirkung eines DNP-Bades auch im Verhalten der Proben gegenüber Indolylessigsäure (IES). Die Spalthälften wurden zunächst wieder 1 Std lang mit 5×10^{-5} mol DNP in 0,0075 mol Phosphatpuffer bzw. in reinem Phosphatpuffer vorbehandelt und sodann in IES-haltige (10 mg/l), giftfreie Pufferlösung übertragen. Nach 1stündigem Aufenthalt in diesem Bad ergaben sich die folgenden Gewichtszunahmen:

	Vorbehandlung	
	Puffer *ohne* DNP	Puffer *mit* DNP
Gewichtszunahme in IES-Puffer	3,68%	0,42%

Diese Vorversuche zeigen demnach deutlich, daß während der 1stündigen Vorbehandlungszeit bereits stark wirksame Mengen des Atmungsgiftes in die Spalthälften des Hypokotyls eingedrungen sind.

Auf Grund dieser Erfahrungen konnte nunmehr bei den Hauptversuchen folgendermaßen verfahren werden: Intakte *Helianthus*-Keimlinge wurden zunächst 30 min lang horizontal exponiert. Sodann wurden die Hypokotyle wie bei den früheren Versuchen längs halbiert und die gewogenen Spalthälften in eine gepufferte Mannit-Konzentrationsreihe verteilt, in der jede Stufe 5×10^{-5} mol DNP enthielt. Eine entsprechende Serie ohne Giftzusatz diente als Kontrolle. In diesen beiden Reihen verblieben die Proben wie bisher 1 Std. Schließlich wurden die Stücke aus den Lösungen entnommen, abgetrocknet und abermals gewogen. Die so gewonnenen Meßpunkte ergaben demnach die Saugkraftswerte des Gewebes nach 1stündiger Giftwirkung.

Tabelle zeigt das Ergebnis. Zunächst ist der geringe Unterschied zwischen den Saugkraftswerten der vertikalen Kontrollen bei Messung mit und ohne DNP-Zusatz erstaunlich. Das *S-Defizit* der vergifteten Proben beträgt diesmal nur 11,6%, wogegen in den Vorversuchen die *Wasseraufnahme* während der Stunde nach der DNP-Vorbehandlung um 94,3%

reduziert war. Dieser Unterschied erklärt sich wohl daraus, daß die Entkopplung der Energieübertragung durch das eingedrungene DNP sich erst nach Verbrauch des im Gewebe noch gespeicherten Energievorrates voll auswirken kann.

Tabelle 6. *GSR nach 30 min Horizontalexposition, gemessen mit gepufferten DNP-haltigen und DNP-freien Mannit-Konzentrationsreihen*

v = Vertikalkontrolle, o = Oberhälfte, u = Unterhälfte. p_H = 5,58. Mittelwerte aus je 5 Versuchen mit insgesamt 50 Pflanzen.

	Atm.			100 × Quotienten		
	v	o	u	u/o	u/v	o/v
Messung mit DNP .	1,91	2,59	3,17	122,4	166,0	135,6
Messung ohne DNP .	2,16	3,22	3,33	103,4	154,2	149,1

Trotz der kurzen Reaktionszeit ergibt sich jedoch schon ein anderer sehr bemerkenswerter Effekt: Die Saugkraft wird durch das Gift in der Organoberhälfte erheblich stärker erniedrigt als in der Unterhälfte:

	Oberhälfte	Unterhälfte	Vertikal
S-Verlust durch DNP . .	19,6%	4,8%	11,6%

Diese Asymmetrie des Effekts hat zur Folge, daß die S-Quotienten u/o und u/v bei den DNP-behandelten Proben erheblich höhere Werte erreichen als im nichtvergifteten Gewebe (vgl. Tabelle 6).

Der geschilderte Befund läßt eine bisher noch nicht beobachtete Geo-Reaktion erkennen: eine Polarisierung der Empfindlichkeit des induzierten Organs für das Atmungsgift. In der oberen Flanke wirkt DNP stärker, in der unteren schwächer als im ungereizten Hypokotyl (Abb. 5).

b) Versuche mit Na-Azid. Nach den Erfahrungen mit dem Entkoppler der Energieübertragung DNP war es von Interesse, den Einfluß eines ganz anders wirkenden Atmungsinhibitors zu prüfen, Na-Azid, das die Fe- und Cu-haltigen Oxydasen blockiert.

Das Versuchsprinzip entsprach ganz dem in der vorigen Serie. Nur enthielten alle Stufen der zur Saugkraftbestimmung dienenden Mannit-Reihe diesmal 10^{-3} mol NaN_3. Sie waren mit 0,0075 mol Phosphatpuffer auf p_H 5,54 eingestellt.

Im Vergleich mit den DNP-Versuchen erscheint im Azid der Saugkraftswert der vertikalen Kontrollen bereits nach 1stündiger Einwirkung des Giftes viel drastischer reduziert. Das Defizit gegenüber dem nichtvergifteten Gewebe beträgt hier 51,9%.

Tabelle 7. *GSR nach 30 min Horizontalexposition, gemessen mit gepufferten azidhaltigen und azidfreien Mannit-Konzentrationsreihen*

$p_H = 5{,}54$. v = Vertikalkontrollen, o = Oberhälfte, u = Unterhälfte. Mittelwerte aus je 5 Versuchen mit insgesamt 50 Pflanzen.

	Atm.			100 × Quotienten		
	v	o	u	u/o	u/v	o/v
Messung mit Azid .	1,04	2,09	2,75	131,6	264,4	201,0
Messung ohne Azid .	2,16	3,22	3,33	103,4	154,2	149,1

Bei den induzierten Pflanzen zeigt sich wieder der gleiche Grundeffekt wie beim DNP: Die Saugkraft der Oberhälfte wird sehr viel stärker herabgesetzt als die der Unterhälfte:

	Oberhälfte	Unterhälfte	Vertikal
S-Verlust durch Azid . .	35,1%	17,4%	51,9%

Anders als beim DNP ist hier der Verlust aber auch in der Oberhälfte beträchtlich geringer als bei den Vertikalkontrollen. Die Geo-Induktion ruft also eine allgemeine Verringerung der Azidempfindlichkeit des Gewebes hervor, die jedoch in der Unterhälfte wesentlich stärker zum Ausdruck kommt als in der Oberhälfte.

Diese Polarität der Giftwirkung führt wieder zu einem Ansteigen der S-Quotienten, von dem hier auch der o/v-Wert betroffen ist. Aus Abb. 5, in der die S-Verluste in den beiden letzten Versuchsreihen als Säulendiagramme nebeneinandergestellt sind, ist zu ersehen, daß dieser Effekt sich beim Azid wesentlich auffälliger entwickelt als beim DNP.

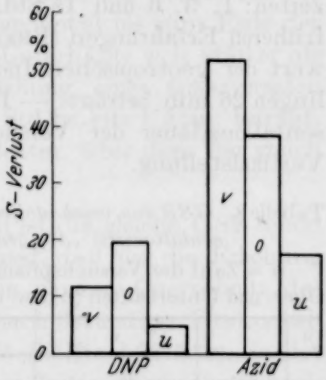


Abb. 5. Saugkrafterniedrigung durch DNP und durch Na-Azid in Prozenten der Werte der nicht-vergifteten Kontrollen

Die hier beobachtete Wirkung der Schwerkraft auf die Empfindlichkeit des induzierten Gewebes gegenüber Atmungsinhibitoren wird möglicherweise zum Verständnis des Wesens der zellphysiologischen Veränderungen beitragen, welche die geotropische Reaktion einleiten. Weitere Untersuchungen werden aufzuklären haben, ob der gesuchte Primäreffekt eine Permeabilitätsänderung ist, die zu einer Hemmung des Gifteintritts in das Gewebe führt, oder eine chemische Veränderung, die den eingedrungenen Inhibitor teilweise entgiftet.

8. Die GSR bei dekapitierten Keimlingen

Schließlich war noch die wichtige Frage zu prüfen, ob die Entstehung der Geo-Saugkraftreaktion an die Gegenwart von endogenem Wuchsstoff gebunden ist. Eine Aufklärung dieser Verhältnisse war darum wesentlich, weil wir von früheren Versuchen her wissen, daß dekapitierte *Helianthus*-Keimlinge, die an Auxin weitgehend verarmt sind, zwar ihr Krümmungsvermögen einbüßen, nicht aber ihre geotropische Induzierbarkeit (Brauner u. Hager 1958, S. 134f.). Wenn also die GSR auch im wuchsstoffverarmten Organ auftreten sollte, so würde dies bedeuten, daß die entstehende Saugkraftdifferenz für sich allein noch keine Krümmungsbewegung auszulösen vermag.

Methodik. 5—6 Tage alte Keimlinge wurden dekapitiert und sodann 4 Tage lang in einem Dunkelschrank bei 20° C und 85% rel. Feuchte belassen (vgl. S. 418). Nach dieser Verarmungsperiode wurden die Pflanzen im gleichen Schrank zur Induktion horizontal gelegt (1—15 Std). Die geotropisch induzierten Hypokotyle wurden schließlich in ihre Ober- und Unterhälfte gespalten und zur Saugkraftsmessung vorbereitet. Zur Verwendung kamen nur solche Pflanzen, deren Wuchsstoffverarmung durch das Ausbleiben jeder Krümmungsreaktion am Ende der geotropischen Präsentationszeit sicher erwiesen war. — Für die Bestimmung der Saugkraft dienten diesmal, wie in der ersten Versuchsreihe (S. 418) Mannit-Konzentrationsreihen ohne Pufferzusatz.

Ergebnisse. Untersucht wurde die Wirkung von 4 Präsentationszeiten: 1, 3, 6 und 15 Std. Es sei daran erinnert, daß nach unseren früheren Erfahrungen (Brauner u. Hager 1958, S. 136) der Schwellenwert der geotropischen Induktion bei entsprechend verarmten Keimlingen 26 min beträgt. — Die Kontrollen verblieben während der Präsentationsdauer der Versuchspflanzen im gleichen Dunkelschrank in Vertikalstellung.

Tabelle 8. *GSR von wuchsstoffverarmten Hypokotylen nach verschieden langer Präsentationszeit „t", gemessen mit ungepufferten Mannit-Reihen*

n = Zahl der Versuchspflanzen. S-Werte der Vertikalkontrollen (v), sowie der Ober- und Unterhälften (o bzw. u) der exponierten Stiele in Atm. (0° C). T = 20° C.

n	t	v	o	u	o—v	u—v	u—o
60	1 Std	0,86 ± 0,18	1,42 ± 0,29	1,62 ± 0,29	0,56	0,76	0,20 Atm.
75	3 Std	0,99 ± 0,14	2,41 ± 0,29	2,77 ± 0,34	1,42	1,78	0,36 Atm.
42	6 Std	0,47 ± 0,14	1,91 ± 0,38	2,14 ± 0,38	1,44	1,67	0,23 Atm.
50	15 Std	−0,88 ± 0,41	0,16 ± 0,50	1,17 ± 0,32	1,04	2,05	1,01 Atm.

In dieser Reihe fällt zunächst auf, daß die Saugkraft der Hypokotyle durch die Dekapitierung sehr stark erniedrigt wird. Dieser Effekt erreicht vor allem bei den vertikalen Kontrollen ein auffällig hohes Ausmaß. Gerade der 5. Tag der Verarmung, an dem die eigentlichen Versuche ausgeführt wurden, scheint in dieser Hinsicht besonders kritisch zu sein. Während der Normalwert intakter Keimlinge bei etwa 3,2 Atm. liegt,

ist das Saugpotential nach 99stündiger Verarmung bereits auf etwa 1 Atm. abgesunken. Nach weiteren 3 Std beträgt sein Wert nur noch 0,47 Atm., und nach der längsten geprüften Verarmungszeit, 111 Std, verlieren die Proben bereits in reinem Wasser an Gewicht. Durch Extrapolierung der Bestimmungskurve ergibt sich hier demnach ein negativer Wert für das Saugpotential: etwa —0,9 Atm. Daß dieses Verhalten nicht der Ausdruck einer ernsthaften Schädigung des Gewebes sein kann, geht aus der gleich zu besprechenden auffällig starken Reaktionsfähigkeit der Proben im Schwerefeld hervor. Die dekapitierten Pflanzen guttieren im feuchten Schrank selbst nach 5 Tagen immer noch kräftig. Es wäre daran zu denken, daß die beobachtete negative Saugkraft des stark verarmten Hypokotyls durch seine Abtrennung vom noch sehr aktiven Wurzelsystem verursacht wird, das bisher den Turgordruck in den lebenden Zellen des Hypokotyls durch Einpressen von Wasser über ihren osmotischen Wert erhöht hatte. — Eine Aufklärung dieses interessanten Effekts soll einer besonderen Untersuchung vorbehalten bleiben.

Wesentlicher für unser gegenwärtiges Problem ist aber die Tatsache, daß die geotropische Induktion das Saugpotential auch im wuchsstoffverarmten Organ erheblich erhöht. Am auffälligsten äußert sich dieser Effekt nach 15stündiger Präsentationszeit. Er hat zur Folge, daß die Saugspannung im horizontal exponierten Hypokotyl bis zum Ende der Versuchszeit positiv bleibt, und zwar in der Unterhälfte weit stärker als in der Oberhälfte. Dies führt zur Entstehung eines transversalen Gradienten des Saugpotentials, der nach 15 Std bereits 1 Atm. beträgt. Der Wert der Unterseite liegt dann etwa 2 Atm. über dem der gleich lange verarmten Vertikalkontrollen.

Aber auch bei kürzeren Expositionszeiten ist die gleiche GSR schon deutlich zu erkennen, nur mit dem Unterschied, daß hier die Erhöhung der Saugkraft noch gleichmäßiger über den ganzen Querschnitt des induzierten Organs verteilt ist. So beträgt nach 3stündiger Horizontallage die Zunahme der Saugkraft in der Unterhälfte 1,78 Atm., in der Oberhälfte 1,42 Atm. gegenüber dem zu dieser Zeit noch eindeutig positiven Wert der gleich alten Kontrollen (+ 0,99 Atm.). Die Effekte sind statistisch gut gesichert: Der Anstieg in der Oberseite entspricht dem 4,4fachen σ der Differenz o—v, der in der Unterseite dem 4,8fachen σ der Differenz u—v.

Schließlich wurde die Wirkung einer noch kürzeren Präsentationszeit geprüft, die sich bereits dem geotropischen Schwellenwert der verarmten Hypokotyle nähert, 1 Std. Da diese Versuche nicht gleichzeitig mit den 3—15 Std-Messungen der Serie ausgeführt werden konnten, schließen die erhaltenen Absolutwerte nicht ganz harmonisch an die Gesamtkurve an

(die Saugkraft der v-Kontrollen liegt bei dem hier verwendeten Material etwas niedriger als im 3 Std-Versuch). Wesentlich ist aber, daß auch schon nach dieser verhältnismäßig kurzen Präsentationszeit der Grundeffekt der GSR deutlich sichtbar wird: In der Oberseite ist das Saugpotential um 0,56 Atm. angestiegen, in der Unterseite um 0,76 Atm. Bei dem geringen Ausmaß der Reaktion beeinträchtigt die Streuung die statistische Sicherung der Ergebnisse stärker als in der 3 Std-Serie. Der Differenzwert „u—v" entspricht seinem 2,2fachen σ, der „o—v"-Wert seinem 1,7fachen σ. — In Abb. 6 ist die Abhängigkeit der GSR von der Präsentationszeit unter Berücksichtigung sämtlicher 4 Serien graphisch dargestellt. Als Maß des Effekts mußten diesmal die Differenzen „o—v" bzw. „u—v" gewählt werden, da der negative Saugkraftwert der 15 Std-Kontrolle die sonst bevorzugte Quotientenbildung ausschloß.

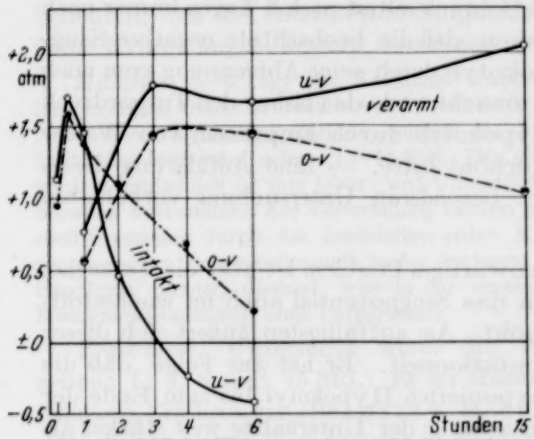


Abb. 6. GSR bei IES-verarmten und bei intakten Keimlingen. Abszisse: Induktionsdauer; Ordinate: S-Differenzen u—v bzw. o—v als Maß des Effekts

Vergleicht man das Verhalten der dekapitierten Hypokotyle mit dem der intakten Pflanzen, so fällt auf, daß die GSR sich im verarmten Gewebe zwar viel langsamer entwickelt, aber schließlich ein durchaus ähnliches Ausmaß erreicht. Interessant ist ferner, daß bei den dekapitierten Keimlingen der Anstieg der Saugkraft in der Organunterseite sich bis zu den längsten Präsentationszeiten (15 Std) fortsetzt, während er bei den intakten Pflanzen nach einem frühzeitig erreichten Maximum von einem steilen Abfall abgelöst wird. Auch in der Oberhälfte der verarmten Hypokotyle erhöht die geotropische Induktion den Saugkraftwert. Doch bleibt der Anstieg bei allen Präsentationszeiten erheblich unter dem in der Unterhälfte zurück. Es kommt hier also in keinem Bereich zu einer Überschneidung der beiden Saugkraftkurven, wie sie für die intakten Keimlinge charakteristisch war. Die osmotische Polarisierung des Organs bewahrt demnach auch bei der längsten Reizdauer noch ihren ursprünglichen Sinn. Der Saugkraftunterschied zugunsten der Unterseite ist dann sogar bei weitem am größten (1 Atm.!). Aus den Ergebnissen dieser Versuchsreihe geht deutlich hervor, daß der Grundeffekt der GSR, das Ansteigen des Saugpotentials im geotropisch induzierten Organ, auch nach weitgehender Verarmung des Gewebes an

endogenem Wuchsstoff noch unvermindert stark auftritt. Die auffällige Erhöhung der Reizschwelle und die Verlangsamung der Reaktionsgeschwindigkeit muß dann offenbar darauf beruhen, daß die dekapitierten Keimlinge außer ihrem Auxin auch einen erheblichen Teil ihrer energieliefernden Reservestoffe verloren haben.

Schlußbemerkungen

In der vorliegenden Mitteilung ist zunächst nur über die Grunderscheinung der GSR berichtet worden, und darüber, daß der Effekt wohl sauerstoff- aber kaum auxinbedürftig ist. Die Ergebnisse einer bereits abgeschlossenen Analyse der Faktoren der Saugkraftreaktion sollen erst in einem folgenden Bericht vorgelegt werden. Hier sei aber schon vorweggenommen, daß von den beiden Bestimmungsgrößen des „normalen" Saugpotentials, osmotischer Wert und Wandspannung, vor allem die letztere durch die transversal einwirkende Schwerkraft beeinflußt wird. Dieser Effekt, eine meßbare Zunahme der gesamten und vor allem der plastischen Dehnbarkeit der Zellwände im geotropisch gereizten Organ, ist bereits von DE HAAS (1929), HEYN (1934), METZNER (1934) und GESSNER (1934) nach vielstündiger Induktion beobachtet worden. Unsere eigenen Messungen zeigten, daß schon eine Reizlage von nur wenigen Minuten Dauer ausreicht, um eine gut meßbare Erhöhung der Wandplastizität hervorzurufen. Andererseits hat sich ein Ansteigen des osmotischen Wertes bisher (kryoskopisch) noch nicht erfassen lassen. Demnach dürfte die GSR primär durch eine Zunahme der Wanddehnbarkeit und *nicht* durch Anatonose ausgelöst werden. Ob dann auch noch andere, bisher nicht erfaßte Faktoren an der Primärreaktion beteiligt sind, werden weitere Untersuchungen zeigen müssen. Zu denken wäre zunächst an die Mitwirkung einer anomalen Komponente der Saugspannung, die in den gemessenen Werten mit enthalten sein könnte.

Unerwartet war die Erfahrung, daß die GSR auch in wuchsstoffverarmten Hypokotylen annähernd gleich stark auftreten kann. Wenn die Saugkrafterhöhung in horizontaler Reizlage, wie vermutet, durch eine Plastifizierung der Zellwände ausgelöst wird, ist diese Veränderung also bereits bei einem sehr niedrigen Wuchsstoffspiegel möglich.

Ferner sei noch auf eine weitere, nicht ganz leicht verständliche Tatsache hingewiesen: Es wäre zu erwarten gewesen, daß der erhebliche Saugkraftsunterschied zwischen Ober- und Unterhälfte, der sich in dekapitierten Keimlingen nach längeren Expositionszeiten entwickelt, zu einer entsprechenden Turgorbewegung führen würde. Dies ist aber auch bei guter Wasserversorgung nicht der Fall, die Stiele bleiben selbst nach 15stündiger Exposition völlig gerade. Eine schwerwiegende Schädigung des Organs durch die lange Verarmungsdauer kann hierfür nicht

verantwortlich gewesen sein, da nach früheren Erfahrungen ebenso vorbehandelte Stümpfe auf Zufuhr von synthetischem Wuchsstoff bekanntlich noch mit kräftigen Nachkrümmungen reagieren. Es wäre denkbar, daß eine Auswirkung des Saugkraftgradienten durch einen sehr hohen Diffusionswiderstand im Gewebe beeinträchtigt wird. Daß der Unterschied bei der Messung der Saugkräfte nach unserer üblichen Methode dennoch in Erscheinung trat, könnte daran liegen, daß die Bestimmung stets an Spalthälften vorgenommen wurde, deren große Schnittfläche einen Wasseraustausch erheblich erleichtert haben mußte. Eine eindeutige Entscheidung der Frage steht jedoch noch aus.

Es bleibt nun noch zu erwägen, ob die GSR in der intakten Pflanze als aktives Glied der geotropischen Reizkette mitwirkt. Ein endgültiger Beweis hierfür konnte noch nicht erbracht werden. Immerhin ist es auffällig, daß die Schwellenwerte der Induktion des Geotropismus und der GSR annähernd identisch sind: sie betragen beide etwa 2 min. Diese Übereinstimmung macht es sehr wahrscheinlich, daß die GSR einer der Primäreffekte der horizontalen Reizlage ist und nicht etwa eine sekundäre Folge der geotropischen Induktion.

Schließlich verdient noch ein weiterer wesentlicher Punkt Beachtung: Die durch die GSR im ganzen Hypokotyl hervorgerufene Steigerung des Saugpotentials erreicht stets ein sehr viel beträchtlicheres Ausmaß als der gleichzeitig entstehende osmotische Quergradient. Wenn also der Saugkraftfaktor an der Entstehung der geotropischen Reaktion aktiv beteiligt ist, so wäre zu vermuten, daß sich dabei die *allgemeine* Erhöhung der Saugspannung im induzierten Organ nicht weniger auswirkt als deren transversales Gefälle. Der entscheidende Faktor dürfte die Zunahme der Wanddehnbarkeit im gesamten gereizten Organ sein.

Zusammenfassung

1. Am Hypokotyl von *Helianthus annuus*-Keimlingen wurde untersucht, ob sich bei geotropischer Reizung die Saugkraft (S) des Gewebes verändert. Die Bestimmung erfolgte gravimetrisch an Spalthälften des Organs. Als Meßlösungen dienten Konzentrationsreihen von Mannit.

2. Zuerst wurde geprüft, ob im transversalen Schwerefeld bereits vor dem Sichtbarwerden einer geotropischen Krümmung eine Veränderung der ursprünglichen Saugkraftswerte, also eine Geo-Saugkraftreaktion (GSR) auftritt. Es zeigte sich, daß bereits eine $2^1/_2$ min lange Horizontalstellung eine meßbare GSR hervorruft: einen Anstieg von S im ganzen Organ, der sich in der Unterseite etwas stärker auswirkt als in der Oberseite (26,5 bzw. 19,6%). Bei 1 min langer Induktion ist der Effekt statistisch noch nicht gesichert.

3. Auch der Schwellenwert der geotropischen Induktion liegt bei *Helianthus*-Keimlingen im gleichen Bereich. Daher scheint der Schluß berechtigt, daß die nach so kurzen Expositionszeiten beobachtete GSR

eine der primären physiologischen Veränderungen ist, welche von der quer einwirkenden Schwerkraft im Hypokotyl ausgelöst werden.

4. Bei längerer Reizdauer steigt S in beiden Hälften des Organs zunächst noch erheblich an und erreicht nach 30 min-Induktion sein Maximum: in der Unterseite 163%, in der Oberseite 159% des Vertikalwertes. Bei noch längerer Präsentation gleicht sich dieser Anstieg jedoch wieder aus, und zwar in der Unterhälfte früher als in der Oberhälfte.

5. Auch auf dem Klinostaten entwickelt sich in den Hypokotylen eine signifikante GSR. Nach 30 min langer horizontaler Rotation (1 Umdrehung/75 sec) stieg die Saugkraft um etwa 23% über den Wert der vertikalen Kontrollen an. Bei längerer Rotationsdauer klang der Effekt wieder ab.

6. Um zu prüfen, ob die GSR auf einer rein physikalischen Steigerung der Transpirationsgröße beim Übergang in die Horizontallage beruht, wurde zunächst an Filterpapiermodellen und an lebenden Hypokotylen das Ausmaß der Verdunstung in den beiden Stellungen verglichen. In keinem Fall wurde ein erhöhter Wasserverlust in der Horizontallage beobachtet. Ferner wurden Keimlinge unter Wasser 30 min lang vertikal bzw. horizontal exponiert. Ein Vergleich der S-Werte ließ auch hier das Auftreten einer ansehnlichen GSR erkennen. Die in geotropisch induzierten Hypokotylen beobachtete Erhöhung der Saugkraft läßt sich demnach nicht auf eine Steigerung der Transpiration zurückführen.

7. Die Entstehung der GSR ist an die Gegenwart von Sauerstoff gebunden. Nach 1stündigem Aufenthalt in reinem N_2 haben die Keimlinge etwa die Hälfte ihrer Reaktionsfähigkeit verloren, nach 2stündigem Aufenthalt läßt sich kein gerichteter Effekt mehr induzieren.

8. Zur Untersuchung einer Beteiligung metabolischer Faktoren an der Entstehung der GSR wurden Saugkraftsmessungen mit Mannit-Reihen ausgeführt, denen spezifische Atmungsinhibitoren zugesetzt waren: 5×10^{-5} mol Dinitrophenol bzw. 10^{-3} mol Na-Azid. In beiden Fällen verursacht das Gift eine allgemeine Erniedrigung des S-Wertes. Wesentlich ist nun die Beobachtung, daß die geotropische Induktion (30 min) die Giftempfindlichkeit des Organs verändert. DNP verringert die Saugkraft in der oberen Hälfte stärker, in der unteren Hälfte schwächer als im ungereizten Organ. Azid dagegen wirkt auch in der oberen Hälfte schwächer als in den Vertikalkontrollen. In der unteren Hälfte ist der Einfluß des Inhibitors auch hier am geringsten.

Diese Polarität der Giftwirkung führt in beiden Fällen zu einer sehr erheblichen Erhöhung des transversalen S-Gradienten im gereizten Organ:

	Nicht vergiftet	Mit DNP	Mit Azid
$100 \cdot \frac{S_{\text{Unterseite}}}{S_{\text{Oberseite}}}$	103,4	122,4	131,6

Ob die Verringerung der Giftwirkung im induzierten Organ auf einer Herabsetzung der Permeabilität oder auf einer metabolischen Inaktivierung des eingedrungenen Inhibitors beruht, bedarf noch einer Untersuchung.

9. Dekapitierte, an Wuchsstoff verarmte Keimlinge haben zwar ihr Krümmungsvermögen verloren, nicht aber ihre geotropische Induzierbarkeit. Es wurde deshalb untersucht, ob in solchen verarmten Hypokotylen noch eine GSR ausgelöst werden kann. Vier Tage nach der Dekapitierung wurde die Wirkung verschieden langer Horizontalstellungen (1—15 Std) geprüft. Bereits eine 1stündige Präsentationszeit (Schwellenwert der geotropischen Induktion etwa 30 min) rief eine deutliche GSR hervor, der S-Wert der Unterhälfte stieg um 0,76 Atm. an, die der Oberhälfte um 0,56 Atm. Bei längerer Induktion nahm der Effekt, vor allem in der Unterhälfte, noch merklich zu: nach 15 Std betrug der S-Zuwachs in der Oberhälfte 1,0 Atm., in der Unterhälfte 2,1 Atm. Die Befähigung zur GSR ist demnach, ebenso wie die geotropische Induzierbarkeit, nicht an die Gegenwart von Wuchsstoffkonzentrationen gebunden, wie sie für die Auslösung von Krümmungsreaktionen notwendig sind. Der Effekt tritt auch in Hypokotylen auf, die durch den Verlust ihres Wachstumsvermögens völlig gerade geblieben waren. Es ist bemerkenswert, daß der entstehende Saugkraftgradient in ihnen keine Turgorkrümmungen hervorruft.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für ihre großzügige Unterstützung unserer Untersuchungen, Frl. B. Michelly für ihre treue und gewissenhafte Mitarbeit.

Literatur

Ameijden, U. P. van: Geotropism and phototropism in the absence of free oxygen. Rec. Trav. bot. néerl. **14**, 149—214 (1917).

Arslan, N.: Studies on the geo-reactions in the primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul B **14**, 198—242 (1949).

Bara, M.: La quantité fonctionelle relative de l'heteroauxine (IAA) dans les réactions phototropiques et géotropiques, et l'action de la gravitation sur la production hormonale. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul B **22**, 209—238 (1957).

Brauner, L., M. Brauner and M. Hasman: The relations between water intake and oxybiosis in living plant tissues. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul B **5**, 266 bis 309 (1940).

—, u. A. Hager: Versuche zur Analyse der geotropischen Perzeption I. Planta (Berl.) **51**, 115—147 (1958).

Correns, C.: Über die Abhängigkeit der Reizerscheinungen höherer Pflanzen von der Gegenwart freien Sauerstoffs. Flora (Jena), N. R. **50**, 87—151 (1892).

Gessner, Fr.: Untersuchungen über die wachstumshemmende Wirkung der Röntgenstrahlen. Biol. Zbl. **54**, 567—587 (1934).

Haas, R. H. de: On the connection between the geotropic curving and elasticity of the cell-wall. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **32**, 371—373 (1929).

Heyn, A. N. J.: Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Zellstreckung und die Eigenschaften der Zellmembran III. Die Änderung der Plastizität der Zellwand bei verschiedenen Organen. Jb. wiss. Bot. **79**, 753—789 (1934).

Kraus, G.: Über die Wasservertheilung in der Pflanze. II. Der Zellsaft und seine Inhalte. Abh. naturforsch. Ges. Halle **15**, 1—72 (1880).

Larsen, P.: Influence of gravity on rate of elongation and on geotropic and autotropic reactions in roots. Physiol. Plantarum (Cph.) **6**, 735—774 (1953).

Metzner, P.: Zur Kenntnis der Stoffwechseländerungen bei geotropisch gereizten Keimpflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 506—522 (1934).

Overbeck, Fr.: Studien über die Mechanik der geotropischen Krümmung und das Wachstum der Keimwurzel von *Vicia faba*. Z. Bot. **18**, 401—451 (1926).

Renner, O.: Zur Physik der Transpiration. Ber. dtsch. bot. Ges. **29**, 125—132 (1911).

Schley, E. O.: Geo-presentation and geo-reaction. Bot. Gaz. **70**, 69—81 (1920).

Tröndle, A.: Über die ersten Stadien der geotropischen Krümmung. Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich **62**, 371—377 (1917).

Ursprung, A., u. G. Blum: Eine Methode zur Messung des Wand- und Turgordrucks der Zelle, nebst Anwendungen. Jb. wiss. Bot. **63**, 1—110 (1924).

Warner, Th.: Über den Einfluß der geotropischen Reizung auf den Zucker- und Säuregehalt von Sprossen. Jb. wiss. Bot. **68**, 431—497 (1928).

Ziegler, H.: Über den Einfluß der tropistischen Reizung auf den Stoffwechsel der gereizten Organe. I. Z. Naturforsch. **6**b, 200—206 (1951).

Zimmermann, W.: Die Schlafbewegungen der Laubblätter. Tüb. naturwiss. Abh. H. 12, 16—36 (1929).

Prof. Dr. L. Brauner, Botanisches Institut der Universität, München 19, Menzinger Straße 67

Planta 56, 438—446 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Köln

DIE ZYGOTROPISCHE REAKTION BEI MUCORINEEN

II. Mitteilung

Von

M. Plempel und W. Dawid

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. Dezember 1960)

Einleitung

Die zygotropische Reaktion der Zygophoren von *Mucor mucedo* wird von Wirkstoffen gesteuert, deren Übertragungsmechanismus noch nicht endgültig geklärt ist.

Zwei Möglichkeiten der Wirkstoffübertragung sind denkbar:

1. Substratinduktion. Die zygotropischen Stoffe wirken durch Diffusion im Substrat, wobei ein Konzentrationsgefälle im Diffusionsbereich entsteht, das die Wachstumsrichtung der Zygophoren bestimmt (Plempel 1957, 1960).

2. Luftinduktion. Die Wirkstoffe liegen in der Gasphase vor und beeinflussen durch die Luft die Fortpflanzungsorgane des Sexualpartners (Burgeff 1924, Banbury 1954).

Beobachtungen an kopulierenden Mycelien von *Absidia spinosa*, *Rhizopus nigricans*, *Mucor mucedo* und *Phycomyces blakesleeanus* lassen sich unter beiden Gesichtspunkten deuten.

Nachdem durch die Isolierung der Gamone die Auslösung von Zygophorenbildung zu jedem beliebigen Zeitpunkt an isolierten (+)- und (—)-Kulturen möglich geworden und damit die Voraussetzung für experimentelle Arbeiten zur zygotropischen Reaktion der Zygophoren gegeben war, sollte am Beispiel von *Mucor mucedo* der Übertragungsmechanismus der zygotropischen Wirkstoffe geklärt werden.

Allgemeine Methodik

Sexuell aktive Mycelien von *Mucor mucedo* wurden uns vom Zentralbüro für Schimmelpilzkulturen in Baarn zur Verfügung gestellt. Die Kultur der (—)-Mycelien erfolgte auf 3%igem Malzextrakt-Nährboden, dem 1,5% Agar-Agar zugesetzt war. Etwas umständlicher ist die Züchtung der (+)-Mycelien, die zeitweilig ohne ersichtlichen Grund ihre Fähigkeit zur sexuellen Reproduktion verlieren.

Sexuell inaktive (+)-Pilze werden auf sterilisierte Karottenstückchen überimpft und auf Bierwürze-Agar weiterkultiviert. Die Fähigkeit zur sexuellen Reproduktion läßt sich dann über 3—4 Malzextraktagar-Passagen erhalten[1].

[1] Privatmitteilung von Frau Prof. Bunschoten, Zentralbüro für Schimmelpilzkulturen, Baarn, Holland.

Ergebnisse der Untersuchungen

1. Versuche zur Substratinduktion der zygotropischen Reaktionen. Es war bekannt (PLEMPEL 1957, 1960), daß die Exkretion zygotropischer Wirkstoffe erst nach der Zygophorenentstehung erfolgt. Setzt man voraus, daß die Menge der sezernierten zygotropischen Stoffe proportional der Anzahl der gebildeten Zygophoren ist, so müßte im flüssigen Nährsubstrat bei maximaler Zygophorenbildung eine Anreicherung zygotropischer Wirkstoffe in der Nährlösung zu erreichen sein.

Wattekulturen. Petrischalen wurden mit Watte ausgelegt, sterilisiert und mit steriler 3%iger Malzextrakt-Nährlösung getränkt. Je etwa 50 in derselben Nährlösung angekeimte (+)- und (—)-Sporen sexuell aktiver Mycelien von *Mucor mucedo* sät man auf der Watte gleichmäßig aus und bebrütet 3 Tage bei 18° C. Es entstehen ~90 individuelle (+)- und (—)-Mycelien, die vom 3. bis zum 8. Tag miteinander kopulieren. In der Wattekultur entstehen ~1000 (+)- und (—)-Zygophoren und ~200 Zygoten auf Grund zygotropischer Reaktionen. Am 9. Tag wird die Watte mit den darauf wachsenden Mycelien vorsichtig ausgepreßt, die Lösung keimfrei filtriert und auf zygotropische Wirkstoffe getestet.

Der Test erfolgte nach 2 Methoden: a) Türmchentest (BURGEFF 1924, PLEMPEL 1960); b) Capillartest.

Beim Capillartest wird der keimfrei filtrierte Preßsaft aus den Wattekulturen in dünne Schmelzpunktröhrchen aufgesogen und die so präparierten Schmelzpunktröhrchen werden neben einzelne, auf je einer (+)- und (—)-Testplatte durch Gamonzugabe im Lochtestverfahren erzeugte Zygophoren in den Agar gesteckt. Die Diffusion der Testlösung im Agar kann am absinkenden Flüssigkeitsspiegel in den Capillaren verfolgt werden.

Sämtliche Tests dieser Versuchsreihen verliefen negativ, d.h. die neben den Türmchen bzw. Capillaren stehenden (+)- und (—)-Zygophoren von *Mucor mucedo* zeigten keine Krümmungsreaktionen.

In zwei parallel verlaufenden Reihen wurden die Wattekulturen mit je 200 (+)- oder (—)-Sporen beimpft, am 4. Tag mit konzentrierter Gamonlösung behandelt und dadurch innerhalb von 6 Std maximale Zygophorenbildung ausgelöst. Es entstanden ~2000 (—)-Zygophoren bzw. ~1200 (+)-Zygophoren pro Platte. Aus jeder Wattekultur wurden 1,6—2 ml Preßsaft erhalten, den wir im Türmchen- und Capillartest prüften, ebenfalls mit negativem Ergebnis. Um eventuell vorhandene Wirkstoffe in höherer Konzentration zu bekommen, wurde der Preßsaft aus je 4 Wattekulturen — etwa 7 ml — a) direkt, b) nach Ansäuern mit 1n H_2SO_4 auf p_H 3, c) nach Alkalisieren mit 1n KOH auf p_H 9 nacheinander mit Petroläther (40—60°), Äther und Essigester 3 Std im Perforator extrahiert. Die Extrakte wurden am Rotationsverdampfer bei 30° C zur Trockene eingeengt, die Rückstände je mit 0,5 ml Wasser aufgenommen und getestet.

Sowohl im Türmchen- als auch im Capillartest war keine Reaktion der Zygophoren festzustellen.

Engt man 7 ml Preßsaft durch Lyophilisieren zur Trockene ein und testet nach Lösen in 0,5 ml Wasser, so zeigt sich ebenfalls keine Reaktion.

Abb. 1. Drahtringkultur (Seitenansicht)

Test mit Silberdrahtringen. Eine mögliche Zerstörung labiler Wirkstoffe bei der Aufarbeitung wurde bei einem weiteren Versuch ausgeschlossen:

Silberdrahtringe von der Größe einer Petrischale wurden einseitig mit Verbandgaze überzogen, nach der Sterilisation im Autoklaven in je 1 Petrischale gelegt und 2 mm hoch mit Malzagar übergossen. Nach dem Erstarren erhält man Agarscheiben, die am Silberdrahtring aus der Petrischale herausgenommen und aneinander gegenüberliegenden Stellen der Vorder- und Rückseite mit (+)- und (—)-Sporen beimpft werden können (Abb. 1).

Man hängt die beimpften Agarscheiben in einer sterilen, feuchten Kammer auf und tropft am 3. Tag mit der Pipette beiderseits konzentrierte Gamonlösung auf die wachsende Mycelfront.

Unter dem Einfluß der Gamonlösung bilden sich auf der linken Seite der Agarscheibe (+)-Zygophoren, auf der rechten Seite (—)-Zygophoren in großer Zahl, die durch eine 2 mm dicke Agarschicht voneinander getrennt sind.

Diffundierende Stoffe breiten sich im Substrat 3-dimensional aus. Da die Zygophoren bei *Mucor mucedo* normalerweise auf 2—3 mm Entfernung zygotropisch reagieren, müßte dieser Versuch unter Zugrundelegung diffundierender Stoffe so verlaufen, daß sich die (+)- bzw. (—)-Zygophoren nach einer gewissen Wachstumsdauer senkrecht zur Agaroberfläche um mehr als 90° krümmen und zum Substrat zurückwachsen, bzw. junge (+)- oder (—)-Zygophoren dürften sich, wenn diffundierende Wirkstoffe auf der gegenüberliegenden Seite der Agarscheibe angelangt sind, nicht mehr über das Substrat erheben. Das war nicht der Fall.

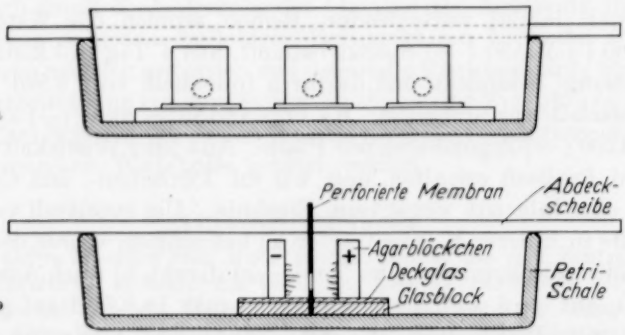


Abb. 2a u. b. Versuchsanordnung zum Test mit perforierter Membran. a Im Schnitt parallel zur Membran. b Im Schnitt senkrecht zur Membran

Der negative Ausgang dieser Versuche macht eine Substratinduktion des Zygotropismus bei Mucor mucedo unwahrscheinlich.

2. Versuche zur Luftinduktion. Die Versuche zur Luftinduktion des Zygotropismus mußten so angestellt werden, daß Substratkontakt mit Sicherheit ausgeschlossen war. Vorversuche zeigten, daß folgende Versuchsanordnungen diese Forderung erfüllen und gute Resultate liefern:

Test mit perforierter Membran. Zwei einseitig plangeschliffene Glasblöckchen (3 × 10 × 55 mm) werden mit Metallon, einem polymerisierenden Klebstoff der Firma Henkel, Düsseldorf, so in einen Petrischalenboden geklebt, daß zwischen den beiden plangeschliffenen Platten eine ~0,2 mm dicke Glimmermembran befestigt werden kann. Die Glimmermembran ist 4mal perforiert. Die Löcher haben einen Durchmesser von 3,5 mm. Da die Membran 4 mm höher ist als der Rand des Petrischalenbodens, verschließt man die Schale mit zwei seitlich plangeschliffenen Glasscheiben, die durch Gummiringe zusammengehalten werden.

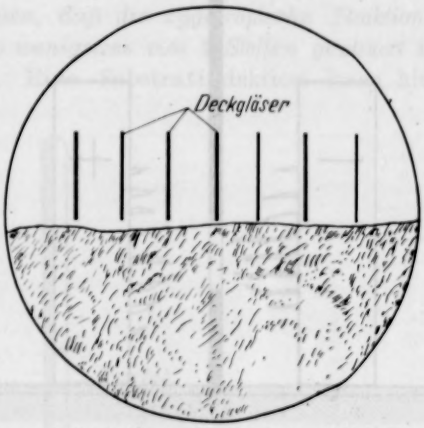


Abb. 3. Herstellung der Agarblöckchen

In der einen Schalenhälfte wurden auf Deckgläser aufgesetzte Agarausschnitte von (+)-Mycelien, in der anderen Schalenhälfte solche von (—)-Mycelien an den Löchern aufgestellt (Abb. 2a und b).

Substratkontakt ist damit ausgeschlossen, Luftkontakt nur an den Löchern der Membran möglich.

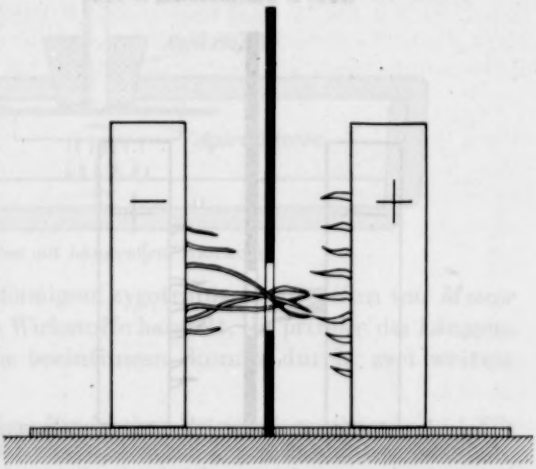


Abb. 4. Zygotropische Reaktion der Zygophoren

Das Pilzmaterial der Agarausschnitte war durch Gamonbehandlung zur Zygophorenbildung gereizt.

Herstellung der Agarblöckchen. Größere Verletzungen an den Mycelien beim Ausschneiden der Agarblöckchen müssen vermieden werden. Man setzt daher Deckgläser parallel zu den wachsenden Hyphenspitzen in den Agar ein (Abb. 3), läßt die Mycelien in die so gebildeten Boxen hineinwachsen und schneidet den Agarstreifen zwischen Vorder- und Hinterkante der Deckgläser aus. Man erhält so genau rechteckige Agarblöckchen mit einer Kantenlänge von 12 × 5 mm. Diese

Agarblöckchen werden für 4 Std in Gamonlösung gelegt, kurz auf Filtrierpapier abgetrocknet und dann wie beschrieben an den Löchern der Membran aufgestellt.

6—8 Std, nachdem die Blöckchen an den Löchern der Membran einander gegenübergestellt waren, zeigte sich die erste zygotropische Reaktion: Bis zu 7 (—)-Zygophoren wuchsen unter mehrfacher Krümmung durch ein Loch der Membran auf einzelne (+)-Zygophoren zu und stellten nach 14 Std Kopulationskontakt her. Die (+)-Zygophoren verhalten sich passiver, zeigten aber ebenfalls deutliche Wachstumskrümmungen (Abb. 4).

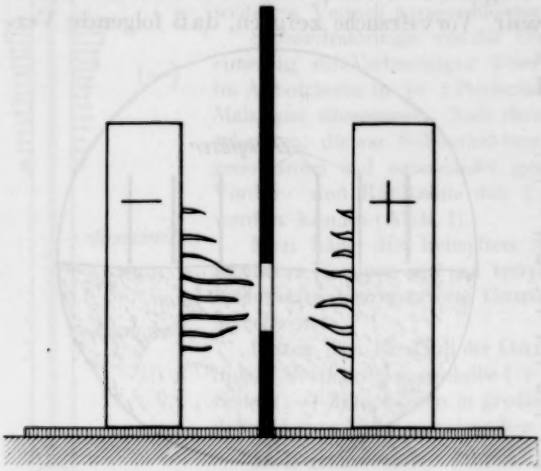


Abb. 5. Beschreibung s. Text

Der Abstand der Blöckchen voneinander betrug bei diesen Versuchen 2,5 mm. Wählt man einen Abstand von 4 mm, entwickelt sich folgendes Bild (Abb. 5):

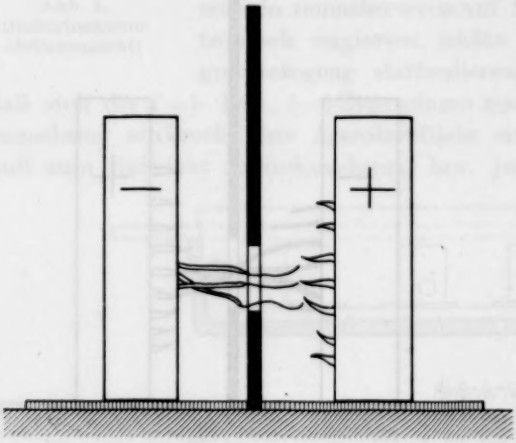


Abb. 6. Beschreibung s. Text

Die am Loch der Membran stehenden Zygophoren beider Paarungstypen zeigen ein deutlich verstärktes Längenwachstum und sind nach ~12 Std doppelt so lang wie die weiter vom Loch entfernt stehenden Zygophoren. Wandelt man den Versuch so ab, daß zuerst die (—)-Blöckchen am Loch placiert und 12 Std später die (+)-Blöckchen aufgestellt werden, sieht man nach 8 Std ein eigenartiges Bild: Die (—)-Zygophoren, die ihr Wachstum schon eingestellt hatten und sich langsam in Sporangienträger umwandelten, bekamen einen starken Wachstumsschub und ließen ihre schon verdickten Enden zu langen dünnen Hyphen auswachsen, die auf das Loch in der Membran zustrebten (Abb. 6).

Die Kontrollen, gegen (+)-Blöckchen gesetzte (+)- bzw. gegen (—)-Blöckchen gesetzte (—)-Ausstiche zeigten keine dieser Reaktionen. In diesen Fällen wandelten sich die meisten Zygophoren auf beiden Seiten innerhalb 20 Std in Sporangienträger um, und der Rest vertrocknete.

Damit war eindeutig bewiesen, daß die zygotropische Reaktion der Zygophoren von Mucor mucedo wenigstens von 2 Stoffen gesteuert wird, die in der Gasphase vorliegen. Eine Substratinduktion kann hierbei sicher ausgeschlossen werden.

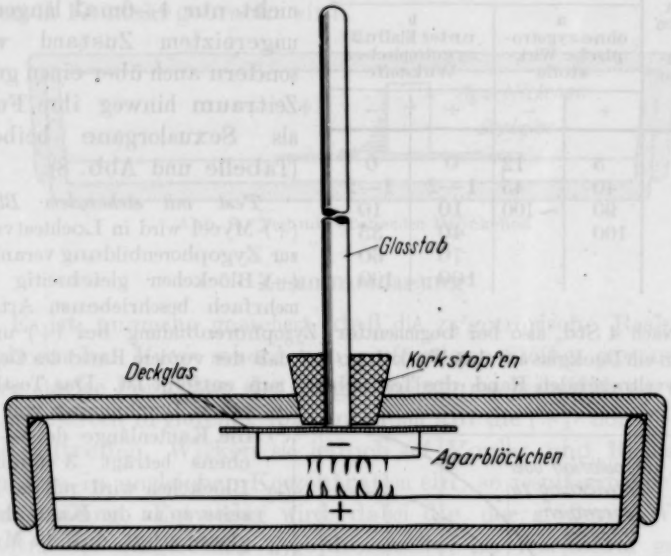


Abb. 7. Test mit hängendem Blöckchen

Daß es sich bei den gasförmigen zygotropischen Stoffen von *Mucor mucedo* um organspezifische Wirkstoffe handelt, die primär das Längenwachstum der Sexualorgane beeinflussen, konnte durch zwei weitere Versuche gezeigt werden:

Test mit hängendem Blöckchen. Ein in einer Petrischale wachsender (+)-Pilz wird durch Gamonzugabe im Lochtestverfahren zur Zygophorenbildung veranlaßt. Gleichzeitig werden (—)-Blöckchen in der beschriebenen Art ausgeschnitten und mit Gamonlösung getränkt. Nach 4 Std wird der Deckel der mit (+)-Mycel beimpften Petrischale durch einen anderen ersetzt, in den ein Loch von 7 mm Durchmesser gebohrt ist. In das Loch setzt man einen passenden Korkstopfen, der als Halter für einen dünnen Glasstab dient, an dessen unterem Ende ein Deckglas angekittet ist (Abb. 7).

Auf das Deckglas setzt man ein (—)-Blöckchen, das eben beginnende Zygophorenbildung zeigt. Dieses Blöckchen, das durch Adhäsion am Deckglas festhaftet, wird genau über die vom (+)-Mycel gebildeten Zygophoren gehängt. Der Abstand vom unteren (+)-Mycel zum (—)-Mycel am hängenden Blöckchen wird durch vorsichtiges Verschieben des Glasstabes auf $\sim$ 3,5 mm eingestellt.

Nach 20—24 Std kopulieren die Zygophoren des hängenden Blöckchens mit denen des (+)-Mycels auf der Platte. Berücksichtigt man, daß die nicht zygotropisch gereizten Zygophoren maximal 0,3—0,5 mm lang werden und nach 20—24 Std bereits zum größten Teil in Sporangienträger umgewandelt sind, so erkennt man, daß sie unter dem Einfluß der gasförmigen, zygotropischen Wirkstoffe nicht nur 4—6mal länger als in ungereiztem Zustand werden, sondern auch über einen größeren Zeitraum hinweg ihre Funktion als Sexualorgane beibehalten (Tabelle und Abb. 8).

Tabelle. *Einfluß der zygotropischen Wirkstoffe auf die Differenzierung der Zygophoren*
Angaben in Prozent sind Mittelwerte aus je 10 Testplatten.

Zeit in Stunden nach Gamonzugabe	Umwandlung der Zygophoren in Sporangienträger in %			
	a ohne zygotropische Wirkstoffe		b unter Einfluß zygotropischer Wirkstoffe	
	+	−	+	−
12	5	12	0	0
18	40	45	1—2	1—2
24	90	~100	10	10
30	100		40	35
36			70	60
42			100	100

Test mit stehendem Blöckchen. (+)-Mycel wird in Lochtestverfahren zur Zygophorenbildung veranlaßt, ein (—)-Blöckchen gleichzeitig in der mehrfach beschriebenen Art präpariert. Nach 4 Std, also bei beginnender Zygophorenbildung bei (+) und (—), legt man ein Deckglas auf das Testloch so auf, daß der vordere Rand des Deckglases vom myceltragenden Rand des Testloches 4 mm entfernt ist. Das Testloch hat einen Durchmesser von 0,9 cm, die Kantenlänge des (—)-Blöckchens beträgt 3×5 mm. Das Blöckchen wird mit der Schmalseite so an die Kante des Deckglases gelegt, daß die Mycelseite dem (+)-Mycel zugekehrt ist (Abb. 9).

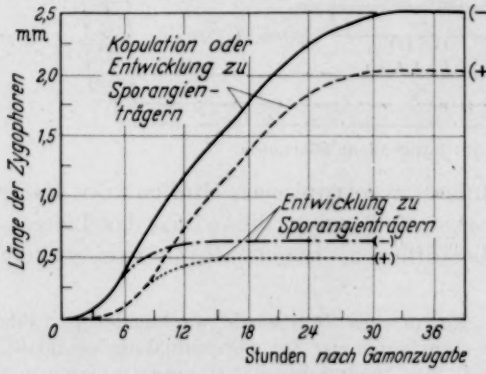


Abb. 8. Steigerung des Längenwachstums der Zygophoren durch zygotropische Wirkstoffe. — (—)-Zygophoren; – – – (+)-Zygophoren unter dem Einfluß der zygotropischen Wirkstoffe; —·— (—)-Zygophoren; ····· (+)-Zygophoren ohne zygotropische Wirkstoffe

Nach 24 Std zeigt sich folgendes Bild: Die unmittelbar über dem Deckglas entstandenen (—)-Zygophoren sind 1,8—2,5 mm lang geworden, ebenso zeigten die am Lochrand entstandenen (+)-Zygophoren die stattliche Länge von ~2 mm.

Die weiter oben am Blöckchen entstandenen (—)-Zygophoren werden mit wachsendem Abstand vom (+)-Mycel kürzer, um am oberen Rand des Blöckchens, also 6—7 mm vom (+)-Mycel entfernt, die normale Länge ungereizter Zygophoren von 0,3 mm zu zeigen. Ebenso sind

die vom Testloch weiter entfernt stehenden (+)-Zygophoren kürzer und zeigen die für (+)-Zygophoren charakteristische leichte Krümmung, während die im Einflußbereich der zygotropischen Stoffe stehenden (+)-Zygophoren ohne jede Krümmung wie die Stacheln eines Igels auf die (—)-Zygophoren zustoßen.

Der Effekt eines verstärkten Längenwachstums der Zygophoren unter dem Einfluß von zygotropischen Stoffen macht deren Wirkung meßbar und eröffnet die Aussicht auf die Entwicklung eines Tests, bei dem der eine Sexualpartner nur mit dem gasförmigen Wirkstoff des anderen in Kontakt gebracht wird.

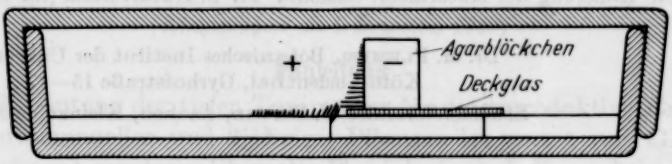


Abb. 9. Test mit stehenden Blöckchen

Zusammenfassung

1. Es ist nunmehr gesichert, daß die zygotropische Reaktion der Zygophoren bei *Mucor mucedo* von gasförmigen Stoffen gesteuert wird, die eine starke Förderung des Längenwachstums herbeiführen, wenn sie von allen Seiten in gleicher Konzentration auf die (+)- oder (—)-Zygophoren auftreffen. Wirken sie jedoch auf Vorder- und Rückseite der Zygophoren in ungleicher Konzentration ein, so resultiert eine Wachstumskrümmung. Entweder wird dabei die der größeren Wirkstoffkonzentration ausgesetzte Zygophorenseite im Wachstum gehemmt, oder das Wachstum der einer geringeren Wirkstoffkonzentration ausgesetzten Seite erfährt eine Förderung.

2. Man ist berechtigt, zwei gasförmige, organ- und geschlechtsspezifische Wuchsstoffe anzunehmen, die als 3..Wirkstoffpaar neben Progamonen und Gamonen in das Schema der Sexualreaktion bei *Mucor mucedo* einzusetzen sind.

3. Diese Verhältnisse wurden bisher nur bei *Mucor mucedo* beobachtet. Auf Grund der Befunde Burgeffs und eigener Versuche ist es sehr wahrscheinlich, daß bei *Phycomyces blakesleeanus* die Steuerung zygotropischer Reizbewegungen im Substrat abläuft.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Frl. M. Arldt und Frl. I. Mensing danken wir für exakte technische Assistenz.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sind wir für großzügige sachliche und personelle Förderung dankbar.

Herr Prof. Straub hat unsere Versuche interessiert verfolgt. Seinen kritischen Diskussionen verdanken wir viele gute Anregungen.

Literatur

Banbury, G.H.: Physiological studies in the *Mucorales*. III. J. exp. Bot. **6**, 235—274 (1954).

Burgeff, H.: Sexualität und Parasitismus. Bot. Abh. **4** (1924).

Plempel, M.: Die Sexualstoffe der *Mucoraceae*. Arch. Mikrobiol. **26**, 156—174 (1957).

— Die zygotropische Reaktion bei Mucorineen. I. Planta (Berl.) **55**, 254—258 (1960).

— Die Darstellung eines kristallinen Benzoesäure-Esters der Gamone von *Mucor mucedo*. Naturwissenschaften **47**, 20, 472 (1960).

—, u. G. Braunitzer: Die Isolierung der Mucorineen-Gamone. I. Z. Naturforsch. **13**b, 302—305 (1958).

— — Die Isolierung der Mucorineen-Gamone. II. Z. Naturforsch. (im Druck).

Dr. M. Plempel, Botanisches Institut der Universität, Köln-Lindenthal, Gyrhofstraße 15—17

Studienreferendar W. Dawid, Aachen, Kleinkölnstraße 15

Planta 56, 447—474 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Justus Liebig-Universität zu Gießen

MORPHOLOGISCHE UND BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN AN VERNALISIERTEN UND NICHT VERNALISIERTEN GERSTENPFLANZEN*

I. Mitteilung

Von

GISELA SPARMANN

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. Dezember 1960)

Einleitung

Die Bedeutung der tiefen Temperatur für die reproduktive Entwicklung winterannueller und 2jähriger Pflanzen ist zuerst von GASSNER (1918) erkannt worden. Über die Physiologie und die praktische Anwendung der Vernalisation (oder Jarowisation) sind inzwischen zahlreiche Arbeiten erschienen.

So sind z. B. die Temperatur- und Lichtbedingungen, die zur Blütenbildung der Eckendorfer Mammut-Wintergerste führen, durch v. DENFFER (1939) untersucht worden. Es zeigte sich, daß Kältebehandlung (Vernalisation) die „Blühstimmung" bewirkt und daß zur Blütenbildung meist Langtagsbedingungen erforderlich sind. Dagegen liegen über die biochemischen Vorgänge, die bei dem Übergang der Wintergerste von der vegetativen in die reproduktive Phase ablaufen und die Ursache der Umstimmung sind, bisher kaum Angaben vor.

Indirekte Hinweise für das stoffwechselphysiologische Geschehen während der Blüteninduktion können durch experimentelle Beeinflussung der Pflanzen gewonnen werden.

So läßt sich die Blütenbildung z. B. durch UV-Bestrahlung beeinflussen. Bei einigen Arten fanden PIRSCHLE u. v. WETTSTEIN (1940) sowie v. DENFFER u. SCHLITT (1951) eine Verkürzung der vegetativen Entwicklungsphase. Die Blühförderung könnte möglicherweise durch eine Verringerung des Wuchsstoffspiegels in der Pflanze bedingt sein (v. DENFFER u. SCHLITT 1951). CHOLODNY (1940) vertritt die Ansicht, daß offenbar ein geringer Wuchsstoffgehalt zur Blühinduktion führt (vgl. dazu aber auch BONNER u. LIVERMAN 1953). Diese Hypothese wurde durch Versuche von LAIBACH u. MEYER (1935) sowie COOKE (1954) experimentell bestätigt (s. auch „Blühhemmungshypothese", v. DENFFER 1950).

---

* Auszug aus einer Dissertation der Naturwissenschaftlich-Philosophischen Fakultät der Justus Liebig-Universität, Gießen.

Auch eine unterschiedliche Stickstoffdüngung hat bei zahlreichen Pflanzen einen Einfluß auf die reproduktive Entwicklung: Durch Stickstoffmangel wird z.B. die Blütenbildung von Sommergerste gefördert (v. DENFFER 1940, BORODIN 1951). ČAJLACHJAN (1945) fand ähnliche Verhältnisse bei verschiedenen Langtagspflanzen. Nach den Untersuchungen von GREGORY u. BAPTISTE (1936) wird das C/N-Verhältnis der Gerste durch Stickstoffdüngung beeinflußt. Die Blühförderung dieser Pflanzen durch Stickstoffmangel könnte daher nach der Theorie von KLEBS (1904, 1906) erklärt werden, nach der die Blüteninduktion eine Folge des hohen C/N-Verhältnisses ist.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Blütenbildung und das Schossen der Gerste bei normaler Entwicklung morphologisch untersucht. Durch verschiedenartige Behandlung (UV-Bestrahlung, N_2-Düngung) sollte versucht werden, die Blütenbildung zu beeinflussen. Ferner sollten biochemische Analysen zeigen, ob zwischen pflanzeneigenem Wuchsstoff und Blütenbildung ein Zusammenhang besteht.

Teil I. Zur Entwicklungsphysiologie der Gerste

A. Das Material und seine Behandlung

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde Eckendorfer Mammut II-Wintergerste verwendet, die von der Saatzuchtanstalt Borries-Eckendorf freundlicherweise zur Verfügung gestellt worden war. Es handelt sich um eine Wechselgerste, die bei Frühjahrsaussaat, wie jedes andere Sommergetreide, zum Schossen kommt.

Anzucht des Materials. Die Pflanzen wurden zum Teil im Freiland, zum Teil im Gewächshaus angezogen. Die Aussaat erfolgte entweder in Töpfe von 20 cm Durchmesser oder in geeignet große erdgefüllte Kästen. Das Erdgemisch bestand aus 4 Teilen Garten- und einem Teil Lauberde. Den Pflanzen wurden täglich je nach Jahreszeit 4—8 Std Zusatzlicht gegeben. Als Lichtquellen dienten Philips-Argenta-Lampen. Pro Quadratmeter war je eine Lampe von 100 W Stärke in einem Abstand von 70 cm über den Pflanzen angebracht.

Besonderer Wert wurde bei der Aussaat darauf gelegt, daß die durchgesiebten Körner regelmäßig über den Topfquerschnitt verteilt wurden und in gleicher Tiefe zu liegen kamen.

Kältebehandlung. Die Kältebehandlung erfolgte nach der von v. DENFFER (1939) angegebenen Weise. Die Körner wurden bei Zimmertemperatur in Glasschalen im Dunkeln angekeimt und, sobald die Wurzelspitzen sichtbar waren, in einem Schrank bei 2° C vernalisiert. Zum Anquellen wurden 100 g Körner mit 50 cm^3 Wasser versetzt. Eine Kälteeinwirkung von 6 Wochen reicht aus, um alle Pflanzen vollständig zu vernalisieren. Eine Devernalisation, bzw. eine Verzögerung des Schoßbeginnes, erfolgte nach dieser Vernalisationsdauer nie, trotz der im Sommer sehr hohen Gewächshaustemperaturen (bis zu 45° C). Während der Induktionsperiode wuchsen die Wurzeln auf eine Länge von 1—2 cm, die Koleoptilen auf 0,2—0,5 cm heran.

Kontrollen. Zu den vernalisierten Pflanzen wurden entsprechende Kontrollen angezogen. Die Körner wurden in oben beschriebener Weise angekeimt und so lange bei Zimmertemperatur im Dunkeln gehalten bis ihr Entwicklungsstadium das der Kältebehandelten erreicht hatte. Nach dem Auspflanzen zeigte sich, wie

auch v. DENFFER feststellte, daß die Kontrollpflanzen kräftiger sind als die künstlich vernalisierten Exemplare. Die Kontrollen zeichnen sich ferner durch ein stärker ausgebildetes Wurzelsystem vor den behandelten Pflanzen aus. Gegen Pilzbefall sind vernalisierte Pflanzen weniger resistent als nicht kältebehandelte, eine Beobachtung, auf die auch AUGSTEN (1956) hingewiesen hat.

UV-Bestrahlung. Als Strahlenquelle diente eine Quecksilber-Hochdrucklampe der Hanauer Quarzlampengesellschaft mit dem Brenner S 700. Die Lampe hing in einem Abstand von 70 cm über den Pflanzen. 6—7 Tage, gerechnet von der Aussaat an, wurde die Gerste täglich einmal bestrahlt. Die Dauer betrug im Sommer 4—8, im Winter 2—4 min, da die Pflanzen im Winter stärker auf die UV-Bestrahlung reagieren als im Sommer.

Stickstoffmangelernährung. Vernalisierte Gerste wurde in mit Quarzsand gefüllte Kulturgefäße ausgepflanzt und täglich einmal mit einer Nährlösung nach VAN DER CRONE mit Zusatz von Erddekokt (Nährlösung 20 cm^3 + 1 cm^3 Erddekokt) gegossen. Für eine Serie war in der Nährlösung das Kaliumnitrat durch Kaliumchlorid ersetzt, so daß diese Pflanzen ohne zusätzliche Stickstoffgaben aufwuchsen.

B. Normaler und experimentell beeinflußter Entwicklungsverlauf

1. Die normale Entwicklung unter besonderer Berücksichtigung der morphologischen Veränderungen am Vegetationspunkt

Die unter günstigen Bedingungen im 18 Std-Langtag und bei einer Temperatur von mindestens 18° C aufwachsende keimgestimmte Gerste benötigt bis zum Ährenschieben (Zeitpunkt des Sichtbarwerdens der Ähre) etwa 60 Tage. Etwa 100 Tage nach dem Auspflanzen der vernalisierten Keimlinge sind die Ähren ausgereift. Die Entwicklung der Pflanzen zerfällt in 2 Abschnitte: das vegetative und das reproduktive Stadium. Besonders wichtig ist der Übergang von der vegetativen zur reproduktiven Entwicklung. Er läßt sich bei der Gerste durch Untersuchung des freigelegten Vegetationspunktes feststellen. Der vegetative, flache, nahezu halbkugelige Vegetationspunkt (Abb. 1a) beginnt plötzlich sich zu strecken (Abb. 1b) und läßt die ersten Blütenprimordien erkennen (Abb. 1c). Sie unterscheiden sich von den Blattanlagen durch eine quer zur Längsachse verlaufende Einschnürung des meristematischen Wulstes („double ridges") (BONNET 1935 u. MUSCHIK 1957). Dieser Zeitpunkt wird bereits 10—12 Tage nach der Aussaat der Gerste im Dreiblattstadium erreicht. Im folgenden wird der Beginn der reproduktiven Phase gleichgesetzt mit dem Zeitpunkt der Streckung der Spitze des Vegetationspunktes. (Dieses Stadium gleicht etwa dem in Abb. 1g gezeigten Vegetationspunkt.)

Auch das reproduktive Stadium gliedert sich in 2 Phasen, die Differenzierungs- und die Schoßphase. In ersterer bleiben die Internodien noch gestaucht, und der Blütenstand beginnt sich weitgehend zu differenzieren. Etwa 28 Tage nach dem Auspflanzen der kältebehandelten Keimlinge setzt die Schoßphase ein, in der die Streckung der

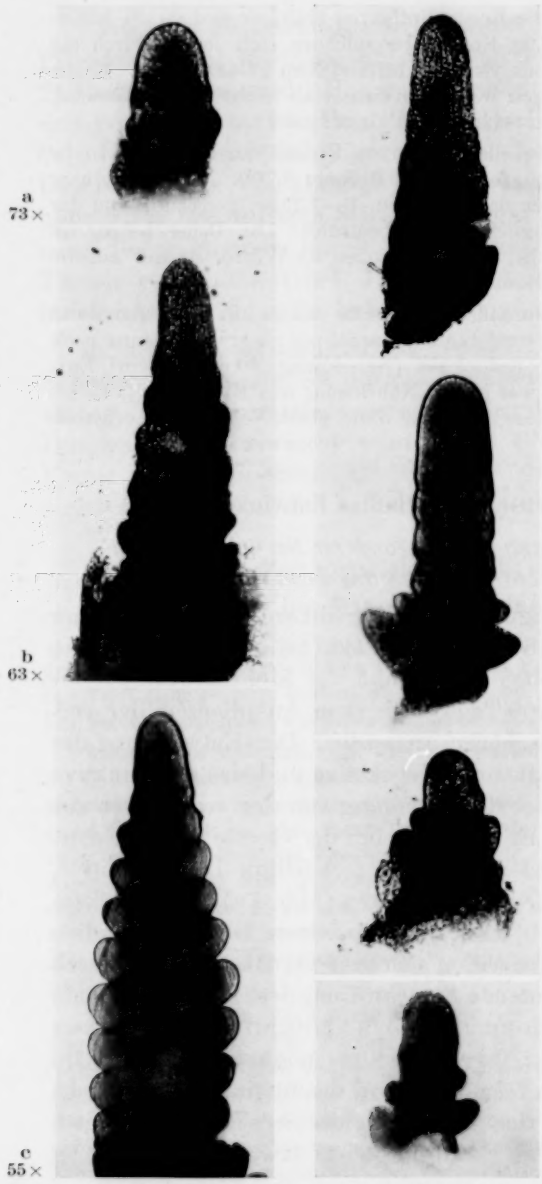


Abb. 1 a—g. Vegetationskegel von vernalisierter Gerste. a—c Pflanzen nicht bestrahlt (a = 6, b = 14, c = 30 Tage alt). d und e Pflanzen täglich 4 min mit ultraviolettem Licht bestrahlt (d = 14, e = 30 Tage alt). f und g Pflanzen täglich 6 min mit ultraviolettem Licht bestrahlt (f = 14, g = 30 Tage alt)

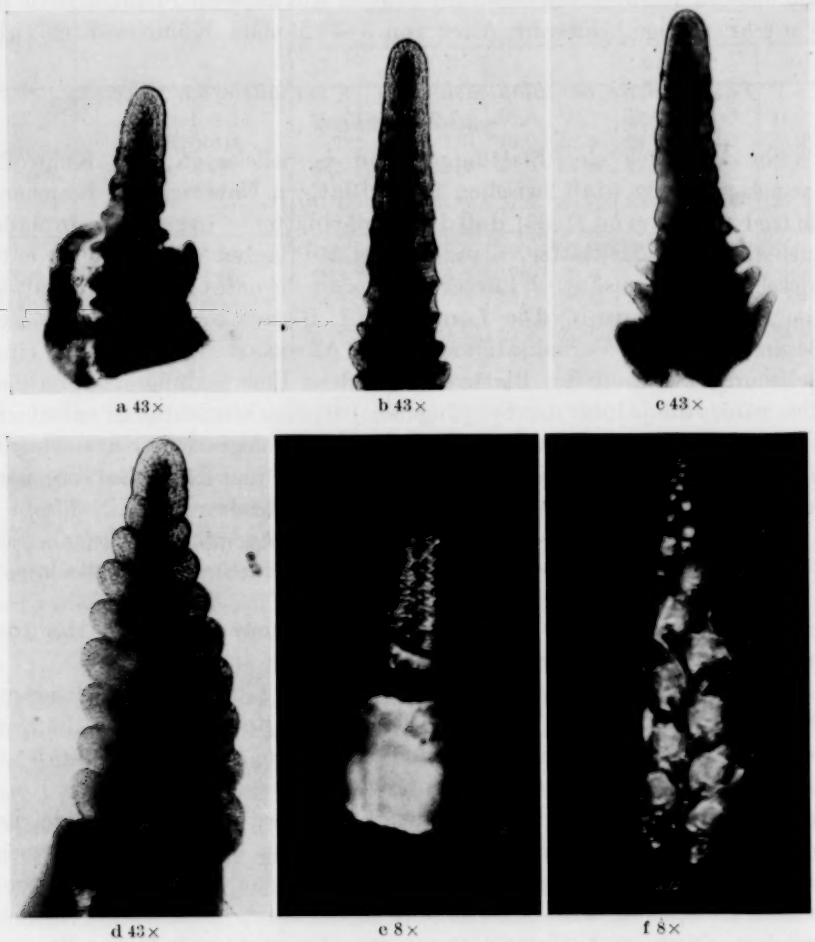
Internodien und die endgültige Ausbildung der Ähre stattfindet (Abb. 1 c) (vgl. auch BOMMER 1960).

Bevor die reproduktive Phase eingeleitet wird, sind 8 Blätter angelegt. Diese Blattzahl ist stets konstant bei genügend lange vernalisierter bzw. im Freiland überwinterter Gerste, somit ein Charakteristikum für die normale Entwicklung (PURVIS u. GREGORY 1957, v. DENFFER 1939).

Erhalten die Pflanzen Dauerlicht, so wird die gesamte Entwicklung um mehrere Tage verkürzt. Die Zahl der Blätter ist auf 7 reduziert. Dagegen tritt unter ungünstigen Kulturbedingungen, z. B. im Kurztag, eine Verlängerung der vegetativen Phase ein, die mit einer Erhöhung der Blattzahl verbunden ist. Gleichzeitig wird der Schoßbeginn hinausgezögert.

Einen bedeutenderen Einfluß auf die Entwicklung der Pflanzen als die Lichtperioden hat jedoch die Temperatur. Nicht kältebehandelte Pflanzen (hier stets: Kontrollen), die bei einer Temperatur von mindestens 18° C kultiviert werden, bleiben zunächst vegetativ, entwickeln zahlreiche Blätter und bestocken sich reichlich. Im Alter von 6 Wochen bilden sie Horste im Gegensatz zu den gleichaltrigen, vernali-

sierten schossenden Pflanzen. Schließlich kommt noch ein Teil (etwa 15%) der unbehandelten Kontrollexemplare nach 5—7 Monaten zum Schossen und Ährenschieben. Allerdings sind die Ähren mangelhaft ausgebildet



a 43× b 43× c 43×

d 43× e 8× f 8×

Abb. 2a—f. Vegetationspunkte nicht vernalisierter Gerste. Alter der einzelnen Pflanzen: a = 4, b = 9, c = 12, d = 16, e und f = 28 Wochen

und bleiben häufig in der letzten Blattscheide stecken. Voraussetzung für diesen Entwicklungsverlauf ist, daß den Pflanzen Dauerlicht gegeben wird.

Untersucht man den Vegetationspunkt der Kontrollpflanzen, so kann man beobachten, daß sich etwa 6 Wochen nach der Aussaat der flache Vegetationskegel zu strecken beginnt und zu einer bemerkenswerten Länge heranwächst (Abb. 2). Diese Primordien sind aber noch in einem labilen Zustand: Sie können sowohl Blätter als auch Blüten

(als Folge weniger Nachtfröste z. B.) bilden (vgl. dazu auch PURVIS u. GREGORY 1937). Ein Teil der Pflanzen (etwa 50%) läßt auch ohne Kälteeinfluß im Alter von 2—3 Monaten Blütenanlagen erkennen (Abb. 2c). Auf diesem Entwicklungsstadium bleiben die meisten Pflanzen stehen. Nur sehr wenige bilden im Alter von 5—7 Monate Kümmerähren aus.

II. Vergleich des Blattwachstums bei vernalisierten Pflanzen und Kontrollen

Ein Vergleich der Blattlängen von vernalisierten und Kontrollexemplaren zeigt, daß zwischen ihren Blättern Unterschiede bestehen. So fand v. DENFFER (1939), daß die Primärblätter — in geringerem Maße auch die Sekundärblätter — vernalisierter Pflanzen sich schneller entwickeln, jedoch wesentlich kürzer bleiben als die entsprechenden Blätter von Kontrollpflanzen. Die Länge des 1. Blattes ermöglicht also die Bestimmung des Vernalisationsgrades. ANDERSEN (1952) weist eine Beziehung zwischen der Blattzahl und dem Entwicklungsstadium der Ähre nach, die jedoch nur bei jüngeren Pflanzen eindeutig zu erkennen ist. Es war deshalb von Interesse, die morphologischen Unterschiede (Internodienlängen, sowie Längen von Unter- und Oberblättern) von vernalisierten Pflanzen und Kontrollen zu vergleichen.

Für jede Einzelmessung wurden 20 Pflanzen in regelmäßigen zeitlichen Abständen präpariert. Die Messungen wurden erst dann eingestellt, wenn das betreffende Blatt seine Endlänge mit Sicherheit erreicht hatte.

In Tabelle 1 sind die mittleren Längen ausgewachsener Blätter von vernalisierten und Kontrollpflanzen aufgeführt.

Man sieht, daß die ersten Blätter (Blatt 1, 2) der vernalisierten Pflanzen kürzer sind als die entsprechenden der Kontrollen. Die Längen von Blatt 3 und 4 stimmen bei beiden Serien überein, während Blatt 5—8 kältebehandelter Pflanzen deutlich länger sind als die Blätter der Kontrollen. Die Messung wurde bei den Kontrollen abgebrochen, da die zunächst vegetativ bleibenden Pflanzen Horste bilden, und die noch folgenden Blätter in ihrer Länge mit Blatt 5 und 6 übereinstimmen. Weitere morphologische Unterschiede ergeben sich aus einem Vergleich zwischen Ober- und Unterblättern vernalisierter und Kontrollgerste (Tabelle 1). Die Oberblätter von Blatt 1—4 induzierter Pflanzen sind kürzer als die der Kontrollen, Oberblatt 5 stimmt etwa bei beiden überein. Oberblatt 6 und 7 vernalisierter Exemplare überflügeln deutlich die Kontrollen. Charakteristisch für vernalisierte Pflanzen ist das stark verkürzte Oberblatt des am letzten Knoten sitzenden Blattes (8), währenddessen das Unterblatt sich durch eine besonders große Länge auszeichnet. Die Unterblätter der induzierten Pflanzen sind mit Ausnahme des 1. Blattes stets länger als die der entsprechenden Blätter von Kontrollen.

Tabelle 1. *Die Längen (in cm) der ausgewachsenen Gesamtblätter, der Ober- und Unterblätter sowie der prozentuale Anteil des Unterblattes am Gesamtblatt von vernalisierten (oben) und nicht vernalisierten Gerstenpflanzen (unten)*

Art des Materials		Längen der ausgewachsenen Blätter in cm							
		Blatt Nr.							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Vernalisiert	Gesamtblatt	6,8	13,4	22,4	30,5	36,7	43,0	43,0	41,0
	Unterblatt	2,7	4,4	7,0	10,0	12,3	14,8	16,0	23,0
	Oberblatt	4,1	9,0	15,4	20,5	24,4	28,2	27,0	18,0
	% Unterblatt / % Gesamtblatt	40%	33%	31%	31%	34%	35%	37%	56%
Nicht vernalisiert	Gesamtblatt	10,2	18,0	22,1	30,0	33,4	34,4	33,1	33,9
	Unterblatt	3,2	4,0	4,5	7,0	8,4	7,9	8,1	8,3
	Oberblatt	7,0	14,0	17,6	23,0	25,0	26,5	25,0	25,6
	% Unterblatt / % Gesamtblatt	31%	22%	21%	23%	25%	23%	23%	23%

In der Abb. 3 ist die Entwicklung der Ober- und Unterblätter von vernalisierten Pflanzen und Kontrollen nebeneinander dargestellt. Es ist auffallend, daß bei beiden Serien das Wachstum von Ober- und Unterblatt zu verschiedenen Zeitpunkten einsetzt. Zunächst beginnt sich das Oberblatt zu strecken. Es schließt auch seine Entwicklung zuerst ab. So ist z. B. die Wachstumsrate von Oberblatt 7 (vernalisiert) am größten im Alter von 21—30 Tagen, die des zugehörigen Unterblattes erst im Alter von 29—40 Tagen. Oberblatt und Unterblatt unterscheiden sich ferner in ihrer Wachstumsgeschwindigkeit: die des Oberblattes ist größer. Das gilt sowohl für die vernalisierten Pflanzen als auch die Kontrollen. Es läßt sich ferner feststellen, daß sich die Blätter bei den nicht kältebehandelten Pflanzen langsamer entwickeln als bei den vernalisierten, d.h. daß zum gleichen Zeitpunkt die Blattzahl der ersteren geringer ist. Durch die Vernalisation wird also auch die Entwicklung der Blätter und ihr Altern beschleunigt (vgl. dazu Bünning 1956). — Zum Zeitpunkt des Schoßbeginnes sind Blatt 1—6 der vernalisierten Pflanzen ausgewachsen, desgleichen nahezu das Oberblatt von Blatt 7, während das von Blatt 8 erst $^1/_5$ seiner Endlänge erreicht hat. Das Wachstum der Unterblätter von Blatt 7 und 8 setzt zu diesem Termin erst ein.

Das Wachstum der mikroskopisch sichtbaren Internodien ist in ähnlicher Weise wie das der Blätter dargestellt. Zum Zeitpunkt des Ährenschiebens haben die Internodien 1—4 ihre Streckung beendet, Internodium 5 wächst noch langsam weiter (Abb. 4). Das ährentragende Internodium hat seine Endlänge erst nach dem Blühbeginn erreicht.

Beim Vergleich des Blatt- und Internodienwachstums läßt sich feststellen, daß die Streckung der Internodien erst dann einsetzt, wenn die

zugehörigen Oberblätter schon nahezu ihre Endlänge erreicht haben, die Unterblätter sich jedoch gerade im stärksten Wachstum befinden.

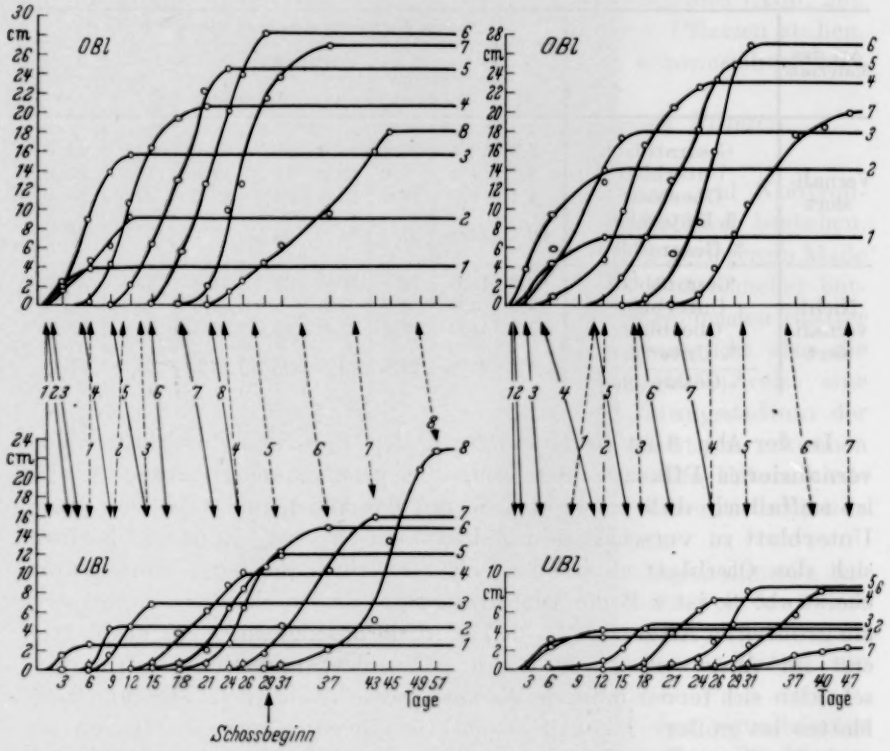


Abb. 3. Der Wachstumsverlauf von Ober- (*OBL*) und Unterblättern (*UBL*) vernalisierter Pflanzen (links) und Kontrollen (rechts). Die Pfeile zwischen den Kurven lassen den zeitlich verschiedenen Wachstumseinsatz (ausgezogene Linien) und den Abschluß des Wachstums (gestrichelte Linien) bei den zusammengehörigen Ober- und Unterblättern erkennen

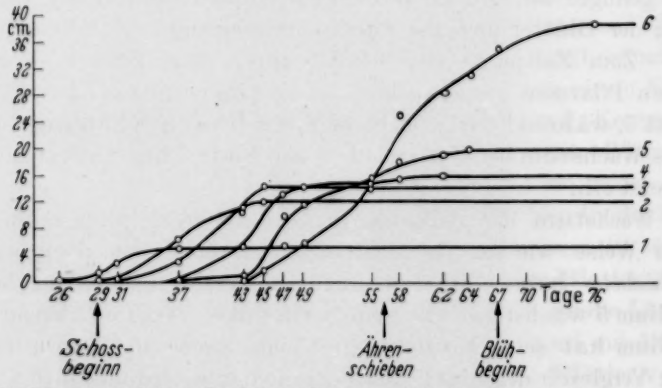


Abb. 4. Das Längenwachstum der Internodien vernalisierter Gerste. Als Internodium „1" wird das von Blatt 4 eingehüllte Internodium bezeichnet

Das erste makroskopisch sichtbare Internodium wird von Blatt 4 eingehüllt und entspricht in Wirklichkeit dem 5. Internodium der Gesamtpflanze (vgl. dazu VELENOVSKY 1905, S. 550). Die 4 ersten Internodien konnten bei diesen Messungen vernachlässigt werden, da sie sich nicht strecken.

III. Die Wirkung einer UV-Bestrahlung auf die Entwicklung der Gerste

Für die Bestrahlungsversuche wurde nicht kältebehandelte Gerste („Kontrollen") neben vernalisierten Pflanzen verwendet. Ein Teil der Pflanzen beider Serien wurde zum Vergleich nicht bestrahlt. Die Behandlung begann jeweils 2—3 Tage nach dem Auflaufen der Gerste (durchschnittlich 7 Tage nach der Aussaat) und erstreckt sich über einen 4wöchigen Zeitraum.

Vernalisierte Pflanzen und Kontrollen reagieren zunächst auf die Bestrahlung in gleicher Weise. Die bestrahlten Pflanzen sind kräftiger und höher (durchschnittliche Differenz nach 21 Tagen: 4—5 cm) als die nicht bestrahlten.

Nach 15—20 Tagen jedoch wird bei einer Tagesdosis von 4 min und mehr eine Schädigung sichtbar. Das Wachstum wird verlangsamt und die ältesten Blätter beginnen zu vergilben. Diese Wirkung tritt bei den vernalisierten Pflanzen viel deutlicher in Erscheinung als bei den Kontrollen.

Eine Bestrahlungsdauer von 2 min täglich scheint eine leicht fördernde Wirkung auf vernalisierte Gerste zu haben, die sich nach etwa 12tägiger Behandlungsdauer bemerkbar macht. Der Vegetationspunkt ist etwas weiter entwickelt als der nicht bestrahlter Exemplare, der Schoßbeginn wird zeitlich jedoch nicht beeinflußt.

Bei erhöhter täglicher Bestrahlungsdauer zeichnet sich die schädigende Wirkung der kurzwelligen Strahlen am deutlichsten am Vegetationspunkt ab. Wie aus Abb. 1 hervorgeht, wird seine Entwicklung merklich gehemmt. Bei einer täglichen Bestrahlungsdauer von 4 min bleibt der Vegetationskegel der vernalisierten Pflanzen auf einem Entwicklungsstadium stehen, das bei nicht bestrahlten Exemplaren nach etwa 11 Tagen erreicht ist (Abb. 1d und e). In diesem Stadium lassen sich die ersten „double ridges" beobachten. Noch stärker wird die Entwicklung des Vegetationspunktes gehemmt, wenn die tägliche Bestrahlungsdauer 6 min beträgt. Selbst 30 Tage alte Pflanzen lassen nur eine leichte Streckung der Spitze des Vegetationskegels erkennen (Abb. 1f und g). Die Blattzahl wird in keinem Falle erhöht.

Wird die Bestrahlung nach 30 Tagen abgebrochen, so kommen die nur 4 min täglich bestrahlten Pflanzen nach weiteren 3 Wochen zum Schossen, bilden aber nur Kümmerähren aus.

IV. Die Bedeutung verschieden starker Stickstoffdüngung für die Blütenbildung

KNODEL (1936) stellte fest, daß verschieden starke Stickstoffgaben keinen Einfluß auf die Entwicklung des Hafers haben, vor allem auch nicht auf die Blühinduktion selbst. Andererseits fanden v. DENFFER

(1940) und ČAJLACHJAN (1944) sowie SCULLY u. Mitarb. (1945), daß die Blütenbildung bei verschiedenen Langtagpflanzen — unter anderem auch Sommergerste — durch hohe Stickstoffgaben gehemmt, durch Stickstoffmangel dagegen deutlich gefördert wird.

Die Entwicklung der *vernalisierten* Gerste läßt sich demgegenüber durch Stickstoffmangel nur unwesentlich beeinflussen. Die Gesamthöhe der Mangelpflanzen betrug in meinen Versuchen im Alter von 3 Wochen durchschnittlich 27 cm, die der kräftigeren, dunkler gefärbten

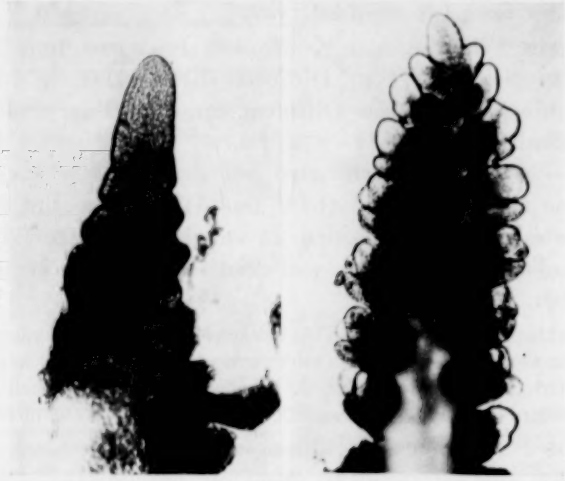


Abb. 5. Vegetationspunkte vernalisierter Gerste im Alter von 20 Tagen. Links in normaler, rechts in stickstofffreier Nährlösung angezogen

Kontrollen 32 cm (gemessen von der Erdoberfläche bis zur Spitze des höchsten Blattes). Die Differenzierung der Ähre wird durch Stickstoffmangel etwas beschleunigt. Im Alter von 3 Wochen (von der Aussaat an gerechnet) ist der Unterschied zu den normal ernährten Exemplaren am Vegetationskegel deutlich sichtbar (Abb. 5). Die zunächst wahrnehmbare Entwicklungsbeschleunigung bleibt jedoch nicht erhalten: Obwohl die Ähren der Mangelpflanzen sich schneller differenzieren, wird der Schoßbeginn nicht vorverlegt. Auch die Blattzahl vernalisierter Wintergerste wird durch Stickstoffmangel nicht beeinflußt. Sie verhält sich also deutlich anders als die bisher untersuchten Sommergetreide.

Teil II. Versuche zur Analyse des Wuchsstoffes der Gerste und zum Nachweis von Tryptophan- bzw. β-Indolylessigsäure abbauenden Systemen

A. Versuche zur Analyse des pflanzlichen Wuchsstoffes

Die β-Indolylessigsäure (IES) dürfte neben weiteren Indolderivaten (z. B. β-Indolacetonitril) der wichtigste pflanzeneigene Wuchsstoff aus

der Klasse der Indolderivate sein. Zur Bestimmung des Wuchsstoffes wurden in der vorliegenden Arbeit 2 Methoden herangezogen: der biologische Test und die chemische Analyse.

I. Versuche zum biologischen Nachweis

Seiner hohen Empfindlichkeit wegen wurde der von Moewus (1948) ausgearbeitete Kressewurzeltest verwendet. Kritische Untersuchungen verschiedener Autoren (Clauss 1952, Schneider 1960 u. a.) sowie die eigene Erfahrung zeigten, daß dieser Test den qualitativen und quantitativen Nachweis pflanzeneigener Wuchsstoffe nur mit Einschränkungen ermöglicht.

Allerdings können aus dem Gesamtkurvenverlauf (Wachstumshemmung in Abhängigkeit von der Extraktverdünnung) gewisse Schlüsse über die qualitative Zusammensetzung eines Extraktes gezogen werden.

Wirkstoffhaltige Extrakte wirken noch in starker Verdünnung auf das Wurzelwachstum ein, während die übrigen Extraktstoffe (z. B. Zucker, Aminosäuren, anorganische Ionen u. dgl.) nur in höherer Konzentration eine Wirkung ergeben. Flacher Kurvenverlauf macht also die Anwesenheit eines Wuchsstoffes wahrscheinlich (vgl. auch Schneider 1960, Abb. 2).

Zum Test wurden ausschließlich Extrakte verwendet, die weitgehend frei von störenden Begleitstoffen waren (zusammenfassende Literatur über Wuchsstoffextraktion und Extraktfraktionierung bei Larsen 1951, Söding 1952, Linskens 1955).

Trotz eingehender Versuche ließ sich lediglich feststellen, daß Gerstenblattextrakte Wuchsstoffe zu enthalten scheinen. Allerdings scheint ihre Konzentration sehr gering zu sein, da reine Ätherextrakte — im Gegensatz zu Methanolauszügen — biologisch nur sehr wenig wirksam sind. Es handelt sich bei den Wirkstoffen wahrscheinlich um Indolderivate, da die Extrakte mit dem Salkowski-Reagens eine positive Reaktion geben und das Reaktionsprodukt sich mit Amylalkohol ausschütteln läßt.

II. Die Extraktion, Anreicherung und papierchromatographische Trennung der in der Gerste vorliegenden Indolderivate

Zur Analyse der in der Gerste vorliegenden Wuchsstoffe wurde die Papierchromatographie herangezogen. Durch die Arbeiten von Jerschel und Müller (1951), Fischer (1954) u. a. ist bekannt, daß mit Hilfe dieser Methode Indolderivate qualitativ und quantitativ bestimmt werden können. Wie aus den mit dem Kressewurzeltest erhaltenen Werten hervorgeht, erwiesen sich alkoholische Extrakte aus Gerstenblättern neben alkalischen Hydrolysaten als biologisch besonders wirksam. Zur papierchromatographischen Analyse wurden deshalb zunächst Alkoholextrakte verwendet.

1. Versuche mit alkoholischen Rohextrakten. Er wurde in folgender Weise vorgegangen: 75—100 g Frischmaterial (Blätter) wurden gründlich abgespült, sorgfältig mit Filtrierpapier getrocknet, im Star-Mix mit der 3—4fachen Menge Methanol (96%ig) homogenisiert und am Rückflußkühler bei 70° C 2 Std lang extrahiert. Nach dem Erkalten wurde das Lösungsmittel vom Pflanzenmaterial abgenutscht und der Filterrückstand mit Alkohol nachgewaschen. Waschalkohol und Extrakt wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum bei 45° C abgedampft. Um das Chlorophyll abzutrennen, wurde der trockene bzw. sirupöse Alkoholrückstand bei 40° C etwa 30 min lang mit 3—5 cm³ Wasser versetzt und anschließend kurz zentrifugiert, so daß eine klare, gelb-braun gefärbte Lösung verblieb. Bei dieser Behandlungsweise gehen die sonst schwer wasserlöslichen Indolderivate in Lösung. Diese Extrakte wurden einer papierchromatographischen Analyse unterworfen.

Das Ergebnis dieser Versuche ist in Tabelle 2 zusammengestellt. In der 1. Spalte sind die mit dem Perchlorsäurereagens auffindbaren Zonen aufgeführt. (Über die Identifizierung s. S. 461.)

Tabelle 2. *Indolderivate aus alkoholischen Gerstenblattextrakten*

Die Trennung erfolgte papierchromatographisch nach der aufsteigenden Arbeitsweise. Lösungsmittel: Isopropanol-Wasser-Ammoniak (80:15:2).

R_f-Wert	Färbung mit Perchlorsäure-reagens	Identifizierung	Bemerkungen
0,9—0,96	grau-violett	Gramin	*
0,98		β-Indolaldehyd	Gelbfärbung mit v. Ecks-Reagens
0,8—0,85	violett-rot	?	
0,6—0,66	violett	Tryptamin (?)	Übereinstimmung nicht immer einwandfrei*
0,5	gelb bis rot	?	**
0,35	gelb bis rot	?	**
0,25—0,3	grün-violett	Tryptophan	nicht immer nachweisbar
0,1	rot-violett	? (verschiedene Substanzen)	nicht immer nachweisbar

* Zone zeigt das UV-Absorptionsspektrum des Indolkernes.
** Zone ergibt keine für den Indolkern charakteristisches Absorptionsspektrum.

Die Extraktion des Trockenrückstandes der alkoholischen Extrakte mit Wasser ist quantitativ. Extrahiert man den anschließend verbleibenden Rückstand mit organischen Lösungsmitteln, so lassen sich papierchromatographisch keine Indolderivate mehr nachweisen.

Erschien eine Fraktionierung des Rohextraktes mit Äther notwendig, so wurde der Trockenrückstand des Alkoholextraktes mit 30—50 cm³ Wasser aufgenommen. Die Fraktionierung erfolgte im allgemeinen im neutralen p_H-Bereich. Im Scheidetrichter wurde der Rohextrakt mit der 3fachen Äthermenge 3mal gründlich ausgeschüttelt, die Ätherphasen vereinigt, der Äther abgedampft und der Trocken-

rückstand mit 2—4 cm³ Wasser bei 40° C aufgenommen. Eine Fraktionierung mit Äther im sauren ($p_H = 3$) oder alkalischen ($p_H = 11$) Bereich erwies sich als unnötig.

Papierchromatographische Untersuchungen ergaben, daß in den sauren Fraktionen Indolderivate fehlten. In den alkalischen sowie in den neutralen Fraktionen ließen sich dagegen einige Indolabkömmlinge nachweisen.

Da einige Indolkörper, z. B. das Gramin, sich nicht quantitativ mit Äther abtrennen ließen, auch nicht nach erheblich verlängerter Extraktionsdauer, wurde der wäßrige, mit Äther ausgezogene Rohextrakt bis zur Trockne eingeengt, der Rückstand mit Wasser (3—5 cm³) aufgenommen und ebenfalls einer papierchromatographischen Analyse unterzogen.

Es kann angenommen werden, daß das Tryptophan als Wuchsstoffquelle in der Pflanze von Bedeutung ist (Literatur bei Larsen 1951). Da in der Gerste Tryptophan nachweisbar ist, mußte geprüft werden, ob es durch die Extraktionsbedingungen zu einem Abbau dieses pflanzeneigenen Tryptophans kommen kann (Gordon u. Wildman 1953). Zur Klärung dieser Frage wurden zunächst Modellversuche durchgeführt.

Eine alkoholische Tryptophanlösung (10^{-3} g/cm³) wurde 3 Std lang bei 70 bis 75° C am Rückflußkühler erhitzt. Die Alkoholkonzentration der Lösung wurde so gewählt, daß sie der von alkoholischen Pflanzenextrakten entsprach (70 bis 75%ig). Papierchromatographisch ließen sich unter diesen Versuchsbedingungen keine Abbauprodukte des Tryptophans nachweisen. Um auf die Verhältnisse im Extrakt einzugehen, wurde homogenisiertem, mit Alkohol versetztem Pflanzenmaterial (50 g Material + 200 cm³ Methanol) 100 mg Tryptophan zugesetzt. Das Gemisch wurde 2 Std am Rückflußkühler auf 70° C erhitzt und ebenfalls papierchromatographisch untersucht. Auch hierbei ließen sich IES und andere Abbauprodukte nicht nachweisen. Daraus kann geschlossen werden, daß aus dem Tryptophan durch 2stündiges Erhitzen mit Alkohol unter Zusatz des Pflanzenmaterials keine IES entsteht. — Wird IES dem Extraktionsgut zugegeben (50 g Material + 200 cm³ Methanol + 100 mg IES) und in gleicher Weise behandelt, so läßt sich unter diesen Bedingungen papierchromatographisch kein Abbau der IES feststellen.

Demnach kann die angegebene Methode zur Extraktion des Wuchsstoffes aus der Gerste als brauchbar angesehen werden.

Papierchromatographisch ließen sich in den Alkoholextrakten von Gerstenblättern einige Indolderivate (s. Tabelle 2) nachweisen, jedoch keine IES. Vermutlich liegt das Heteroauxin bei der Gerste in einer so geringen Konzentration vor, daß eine Materialmenge bis zu 150 g trotz starker Anreicherung offenbar zu dessen Nachweis nicht ausreicht. Es mußten deshalb zunächst größere Mengen an Blättern extrahiert werden.

2. Versuche zum Nachweis der IES in größeren Materialmengen. Bei der papierchromatographischen und papierelektrophoretischen Analyse von Alkoholextrakten, die aus größeren Materialmengen (250—500 g Frischgewicht) gewonnen wurden, machen sich die in den Auszügen in hoher Konzentration vorliegenden Begleitstoffe sehr störend bemerkbar.

Daher ist eine Reinigung der Rohextrakte notwendig, bei der die Indolderivate möglichst verlustlos von den übrigen Stoffen abzutrennen sind. Dazu schien zunächst die chromatographische Adsorptionsanalyse geeignet.

a) Versuche zur Anreicherung der IES an Aluminiumoxydsäulen. Wie LINSER (1951) und FISCHER (1954) zeigen konnten, lassen sich mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse nach TSWETT IES und einige weitere Indolderivate (LINSER u. MASCHEK 1953) aus alkoholischen Kohlextrakten an Aluminiumoxydsäulen adsorbieren und damit anreichern. Andere Indolderivate, z. B. das Nitril, lassen sich aus alkoholischen Lösungen nicht abtrennen, jedoch aus Lösungen von Tetrachlorkohlenstoff.

Da größere Materialmengen extrahiert wurden, mußten die Aluminiumoxydsäulen gegenüber den Linserschen entsprechend vergrößert werden. Nach der Chromatographie wurden die Säulen in verschiedene Abschnitte zerlegt und diese direkt mit dem Salkowski-Reagens versetzt (modifiziert nach GORDON u. WEBER 1951). Es zeigte sich in keinem Falle eine Reaktion, die auf adsorbierte Indolderivate schließen ließ. Das gleiche Ergebnis hatte auch die papierchromatographische Analyse der Eluate (n/10 NaOH) der einzelnen Säulenabschnitte und deren Ätherfraktionen.

Dagegen ließen sich die in Tabelle 2 aufgeführten Indolverbindungen papierchromatographisch in den stark eingeengten Chromatographiefiltraten nachweisen.

Aus anderen organischen Lösungsmitteln ließen sich die Indolderivate an Aluminiumoxyd ebenfalls nicht adsorbieren.

Lediglich in einigen Versuchen ließ sich im untersten Säulenabschnitt das in relativ hoher Konzentration vorliegende Gramin nachweisen. Da in keinem der Versuche β-Indolylessigsäure festgestellt werden konnte, war es naheliegend, einige Modellversuche zur Methodik durchzuführen. Offenbar können geringe Mengen β-Indolylessigsäure aus Gerstenblattextrakten auf diese Weise nicht angereichert werden.

Tatsächlich zeigte sich, daß — selbst unter günstigen Bedingungen — synthetische β-Indolylessigsäure sich über die gesamte Adsorptionssäule verteilt und sogar im Chromatographiefiltrat nachgewiesen werden kann (s. dazu auch LINSER u. Mitarb. 1953, 1954). Setzt man zu den alkoholischen β-Indolylessigsäurelösungen noch andere Stoffe zu (z. B. organische Säuren), so wird der Wuchsstoff aus den oberen Säulenbereichen gänzlich verdrängt.

Gerade dieser Befund macht es wahrscheinlich, daß eine Adsorption der IES an Aluminiumoxyd aus alkoholischen Extrakten nur dann erfolgen kann, wenn das Heteroauxin im Vergleich zu den übrigen Extraktkomponenten in relativ hoher Konzentration vorliegt. Diese Verhältnisse scheinen bei Kohlextrakten gegeben zu sein.

Es wurde daher auf andere Weise versucht, die Indolderivate der Gerste aus Extrakten größerer Materialmengen von den störenden Begleitstoffen abzutrennen.

b) Extraktfraktionierung mit Bleiessig. Bekanntlich lassen sich aus pflanzlichen Extrakten mit Hilfe von Bleiessig vor allem hochmolekulare Substanzen, wie Eiweiß und Schleime, aber auch niedermolekulare Stoffe, wie z. B. Säuren und Phosphate, ausfällen.

In entsprechenden Modellversuchen wurde zunächst festgestellt, daß die Methode zur Reinigung der Extrakte geeignet ist. So wurde einem alkoholischen Gerstenblattauszug synthetische β-Indolylessigsäure zugesetzt und konnte papierchromatographisch nach dem Trennungsgang wieder nachgewiesen werden.

Obwohl sich größere Mengen dieser Extrakte papierchromatographisch gut auftrennen lassen, konnte auch auf diese Weise keine native β-Indolylessigsäure in dem Gerstenmaterial nachgewiesen werden.

c) Die Extraktfraktionierung durch Druck-Ultrafiltration. Gegenüber den angegebenen Methoden zeichnet sich die Ultrafiltration durch verschiedene Vorteile aus: Es lassen sich auf sehr schonende Weise die hochmolekularen Substanzen eines Pflanzenextraktes von dessen niedermolekularen Stoffen trennen. Die Adsorption der niedermolekularen Stoffe am Filterrückstand ist gering, weil dessen Oberfläche durch den zur Filtration angewandten Druck klein gehalten wird. Die so gewonnenen Filtrate lassen sich auch dann papierchromatographisch gut auftrennen, wenn größere Auftragsmengen analysiert werden sollen. Darauf wurde in einer früheren Mitteilung (Sparmann u. Schneider 1955) bereits hingewiesen. Die dort beschriebene Apparatur wurde bei den vorliegenden Untersuchungen angewendet.

Alkoholische Gerstenblattextrakte (300 g Frischmaterial) wurden zur Trockne eingedampft, und der bleibende Rückstand mit möglichst wenig Wasser aufgenommen. Dieser Rohextrakt wurde durch Ultrafeinfilter (Membranfiltergesellschaft, Göttingen) der Porositätsstufe „feinst" mit Hilfe eines Stickstoffüberdrucks von 50 Atmosphären hindurchgepreßt. Das so gewonnene, gelb gefärbte Filtrat (bis zu 0,3 cm^3 davon) konnte papierchromatographisch weiter aufgearbeitet werden.

Trotz der guten Trennung und der großen Auftragsmengen der angereicherten Extrakte ließ sich IES nicht auffinden, sondern lediglich die übrigen, stets auftretenden Indolderivate (s. Tabelle 2).

III. Die papierchromatographische und hochspannungs-papierelektrophoretische Identifizierung der in den Gerstenextrakten vorliegenden Indolderivate

1. Die Papierchromatographie. Zur papierchromatographischen Trennung der Indolderivate wurde die aufsteigende Methode herangezogen. Als Papier bewährten sich Chromatographiepapierstreifen der Firma Schleicher & Schüll 2043 b Mgl. (30×4 cm). Als Lösungsmittel diente ein Gemisch von Isopropanol:Ammoniak:

Wasser (80:15:2), mit dem eine günstige Trennung der Komponenten mit mittlerem R_f-Wert (Tryptophan, IES, Carbonsäure, Propionsäure usw.) erzielt werden kann. Die Auftragsmengen betrugen je nach Extrakt 0,04—0,3 cm³ (s. oben). Nach 10—15 Std Laufzeit wurden die Streifen an der Luft getrocknet und mit dem Perchlorsäurereagens nach BENNETT-CLARK u. Mitarb. (1952) besprüht (50 Teile $HClO_4$ 5%ig, 1 Teil $FeCl_3$ 0,05 Mol.). Die Reaktion ist empfindlicher, wenn das Entwickeln der Chromatogramme für 30—60 min bei 50° C erfolgt. Auf diese Weise lassen sich noch etwa 0,75 γ IES pro Streifen nachweisen. Neben diesem Reagens wurden auch EHRLICHs Reagens und das Nitritreagens zum Entwickeln verwendet. Sie sind jedoch unempfindlicher als das Perchlorsäurereagens. Zum Nachweis des β-Indolaldehyds diente v. ECKs Reagens (10% Benzidin in Eisessig).

2. Papierelektrophorese bei hohen Spannungen. Zur papierelektrophoretischen Zerlegung der Indolderivate wurden zunächst Spannungen von 220 V herangezogen (FISCHER 1954). Nachteilig machte sich jedoch unter diesen Versuchsbedingungen der relativ starke elektroosmotische Effekt bemerkbar, der einer scharfen Zonentrennung entgegenwirkt. Wie in einer früheren kurzen Mitteilung dargelegt wurde (SCHNEIDER u. SPARMANN 1955a) eignet sich die Papierelektrophorese bei hohen Spannungen zur Analyse der Indolderivate deshalb besonders gut, weil infolge der kurzen Versuchsdauer der elektroosmotische Effekt praktisch keine Rolle spielt. Es kommt zu einer sehr scharfen Zonenausbildung und damit zu einer guten Trennung der einzelnen Komponenten. Die unter diesen Bedingungen sonst notwendige Kühlung der Trägerstreifen konnte durch die Anwendung verdünnter Puffer ohne Beeinträchtigung der Wanderungsgeschwindigkeit umgangen werden (SCHNEIDER u. SPARMANN 1955a). Bei der Elektrophorese der Indolderivate sollte eine Versuchsdauer von 45 min möglichst nicht überschritten werden, da die anfänglich sehr hohe Wanderungsgeschwindigkeit zu diesem Zeitpunkt nur noch gering ist. (Weitere Angaben bei SCHNEIDER 1960.)

Als Elektrolyt für die elektrophoretische Trennung der synthetischen Indolderivate diente Essigsäure-Natriumacetatpuffer nach WALPOLE vom $p_H = 5{,}3$ bei einer Verdünnung von 1:64—1:96. Dieser Puffer wurde vor allem deshalb gewählt, weil er weitgehend temperaturunabhängig ist. Bei den Untersuchungen ergab sich bald, wie auch aus Tabelle 3 hervorgeht, daß die Stoffwanderung im elektrischen Feld nicht nur vom Puffer und der angelegten Spannung, sondern auch von der Auftragsstelle abhängig ist. Demnach ist es nicht gleichgültig, ob der Startpunkt in Elektrodennähe oder in der Streifenmitte liegt. Gemische synthetischer Substanzen oder Extrakte wurden als Querstrich an dem jeweils geeignet erscheinenden Startpunkt auf das Trägerpapier aufgebracht. Nach dem Antrocknen wurden die Streifen mit dem Puffer gleichmäßig, jedoch nicht bis zum Glänzendwerden des Papiers, besprüht und in die Elektrophoresekammer eingebracht. Nach dem Versuch wurden die Streifen getrocknet und nach der für die Papierchromatographie bereits beschriebenen Weise entwickelt.

3. Die Identifizierung der im Gerstenblattextrakt vorliegenden Indolderivate. *a) Identifizierung durch Mischchromatogramme.* Die Identifizierung der in Gerstenextrakten papierchromatographisch und -elektrophoretisch nachweisbaren Indolderivate erfolgte durch Mischchromatogramme nach der von KANDLER (1951) vorgeschlagenen Arbeitsweise. Diese Identifizierungsmethode zeichnet sich dadurch aus, daß die synthetische Substanz durch die übrigen Extraktstoffe in gleicher Weise beeinflußt wird, wie der primär im Extrakt vorliegende Stoff, der identifiziert werden soll. Erfahrungsgemäß hemmen die in den Extrakten vorliegenden Ballaststoffe in vielen Fällen die Wanderung der synthetischen Substanz (z. B. Aminosäuren). Eine entsprechende Tabelle findet sich bei SCHNEIDER (1960). Indol-

Tabelle 3. *Papierchromatographie und Hochspannungs-Papierelektrophorese synthetischer Indolderivate*

R_f-Wert in Isopropanol-Wasser-Ammoniak (80:15:2). Wanderungsstrecken (in cm) bei der Papierelektrophorese. Bei der Angabe der Aufsatzstelle in Anoden- bzw. Kathodennähe wurde von der Streifenmitte ausgegangen. Puffer nach WALPOLE, $p_H = 5{,}3$, Verdünnung: 1:64; 1 mA/Streifen (2 × 30 cm); Versuchsdauer 30 min.

Substanz	R_f-Wert	Elektrophoretische Wanderung in Abhängigkeit von der Auftragstelle			Färbung mit Perchlorsäure-reagens
		9 cm von der Anode	Streifen-mitte	9 cm von der Kathode	
β-Indolylessigsäure . .	0,44	+ 3,5	+5,0	+ 7,5	rot-violett
β-Indolkarbonsäure .	0,32	+ 3,5	+3,0	+ 4,7	orange
β-Indolylbuttersäure .	0,61	etwa + 5,0	+4,5	+ 6,2	gelb-violett, Rand violett
β-Indolylpropionsäure	0,50	etwa +5,0	+4,2	+ 5,8	gelb-violett, Rand violett
β-Indolylglyoxylsäure	0,49	nicht nachweisbar		+10,5	gelb
β-Indolacetonitril . .	0,95	− 3,5	−0,7	+ 1,4	grün, mit blauem Rand
β-Indolylacetamid . .	0,86	− 3,7	−0,6	+ 0,2	blau-violett
Tryptamin-Cl	0,66	−11,8	−9,5	nicht nachweisbar	gelb mit blau-violettem Rand
Tryptophol	0,95	− 3,7	−1,5	+ 0,9	schmutzig gelb, Rand violett
dl-Tryptophan	0,33	+ 4,1	−1,1	+ 1,6	gelb mit blauem Rand
Gramin	0,85—0,92	−11,5	−7,5	nicht nachweisbar	violett-grau
Indol	0,95	− 3,9	−2,2	+1,1	rot-orange
Skatol	0,95	− 2,5	+0,5	+1,0	schmutzig rot

derivate verhalten sich häufig umgekehrt. Ihre R_f-Werte werden durch die Begleitstoffe des Extraktes erhöht.

b) Versuch zur kristallinen Gewinnung der Indolderivate aus den Chromatogrammen durch Sublimation. Obgleich dem unter verschiedenen Versuchsbedingungen (z. B. verschiedene Lösungsmittel) übereinstimmenden Mischchromatogramm bei der Identifizierung eines Stoffes die Bedeutung einer Mischschmelzpunktbestimmung beigemessen wird, wurde außerdem versucht, eine Kristallisation und Schmelzpunktbestimmung der Indolderivate durchzuführen. Dabei stößt allerdings die Kristallisation eines aus Papierchromatogrammen eluierten Stoffes meist auf erhebliche Schwierigkeiten.

Durch BEHRENS u. FISCHER (1954) ist bekannt geworden, daß die Indolderivate aus Extrakten sublimierbar sind. Es war daher naheliegend zu versuchen, ob die Indolderivate der Gerste durch Sublimation aus den einzelnen Abschnitten der Chromatogramme kristallin zu erhalten sind.

In einem entsprechenden Modellversuch wurde synthetische IES auf Filtrierpapier aufgetragen, in einem Lösungsmittel entwickelt und die IES-Bande ausgeschnitten. Der mit IES beladene Papierausschnitt des Chromatogramms wurde

in ein einseitig zugeschmolzenes Glasrohr gesteckt, so daß das Papier am zugeschmolzenen Ende zu liegen kam. Über ein Uhrwerk wurde das Glasrohr mit dem zugeschmolzenen Ende voran unter ständigem Evakuieren langsam in einen Wärmegradienten eingeschoben (Apparatur vereinfacht nach BEHRENS u. FISCHER 1954). Dabei kam es zu einer Sublimation der IES aus dem Papier. Die Substanz fand sich kristallin in dem kälteren Teil des Glasrohres wieder. Es zeigte sich aber, daß die IES sich teilweise unter diesen Bedingungen (180—200° C) zersetzt hatte, was an dem starken Skatolgeruch festzustellen war. Die Zersetzung der Substanz muß aber gerade bei Identifizierungsversuchen vermieden werden. Deshalb schien diese Methode den Mischchromatogrammen gegenüber keine wesentlichen Vorteile zu bieten. Ferner wirkt sich nachteilig aus, daß das Chromatographiepapier schon bei wenig über 200° C zu verkohlen beginnt, wodurch eine Sublimation von Stoffen aus den Chromatogrammen eine weitere Einschränkung erfährt.

c) Ergebnis der Identifizierungsversuche. Aus der Farbreaktion mit Indolreagentien läßt sich nicht mit absoluter Sicherheit schließen, ob es sich bei den papierchromatographisch bzw. papierelektrophoretisch fraktionierten und angefärbten Banden tatsächlich um Indolderivate handelt. Gewisse Phenole und Zucker ergeben mit diesen Reagentien ebenfalls eine Anfärbung. Eine weitere Identifizierungsmöglichkeit für Indolderivate besteht darin, daß man das UV-Absorptionsspektrum bestimmt. Dazu wurden die einzelnen, nicht angefärbten Banden mit 50%igem Methanol eluiert und die UV-Absorption dieser Lösung im Spektralphotometer „M4 Q" der Firma Zeiss gemessen. *Die Eluate der Zonen mit dem R_f-Wert 0,9 (Gramin), sowie 0,6 und 0,3 (Tryptophan) ergeben ein eindeutiges, für den Indolkern charakteristisches Absorptionsspektrum* (vgl. dazu Tabelle 2). Die Spektren der übrigen Banden weichen dagegen erheblich von dem Indolkernspektrum ab. Es dürfte sich bei ihnen daher nicht um Indolderivate handeln.

In der Spalte 3 der Tabelle 2 sind diejenigen Substanzen angeführt, die in Mischchromatogrammen bzw. Pherogrammen eine exakte Übereinstimmung mit den aus der Pflanze extrahierten Stoffen ergeben. Neben Gramin läßt sich vor allem in Jungpflanzen Tryptophan nachweisen. Der β-Indolaldehyd ist stets auffindbar, liegt aber nur in sehr geringen Mengen vor. Daneben konnten papierchromatographisch stets zwei weitere Banden (R_f-Wert 0,6 und 0,8) nachgewiesen werden, bei denen es sich wahrscheinlich um Indolderivate handelt, die aber nicht exakt identifiziert werden konnten. Die Zone mit dem R_f-Wert 0,6 konnte nicht mit Sicherheit als Tryptamin identifiziert werden. In Blattpreßsäften lassen sich Tryptophan und Gramin sowie Tryptamin(?) nachweisen.

IV. Versuche zum Nachweis der gebundenen IES aus dem Gerstenmaterial

Das Ergebnis, daß in der Gerste freie IES nicht in chemisch nachweisbarer Menge vorliegt, stimmt mit den Untersuchungen von VLITOS

u. MEUDT (1953) überein. Erst nach einer alkalischen Hydrolyse des Pflanzenmaterials konnten sie die „an Zellkomponenten gebundene" IES in genügender Menge freisetzen und papierchromatographisch nachweisen. Diese Versuche können bestätigt werden. Schon im *Lepidium*-test erwies sich im schwach alkalischen Bereich ($p_H = 11$) autoklavierter Gerstenextrakt als physiologisch besonders wirksam. Durch ein Erhitzen von homogenisierten Gerstenblättern für 5 Std bei 100° C mit 5n NaOH ließ sich in der sauren Ätherfraktion dieser Extrakte ebenfalls IES einwandfrei nachweisen.

Bei dieser Behandlungsweise kommt es aber zu einer Proteinhydrolyse, bei der wohl zunächst Tryptophan freigesetzt wird. Möglicherweise wird dieses freigewordene Tryptophan seinerseits unter diesen Bedingungen abgebaut. Theoretisch kann dabei die laugenstabile IES entstehen. Diese Vermutung läßt sich durch einen Modellversuch bestätigen.

Wird synthetisches Tryptophan in gleicher Weise wie das Pflanzenmaterial mit 5n NaOH hydrolysiert, so kann neben anderen Abbauprodukten die IES papierchromatographisch aufgefunden werden. Über den Tryptophanabbau im alkalischen Milieu soll ein weiterer Versuch Aufschluß geben, bei dem synthetisches Tryptophan (je 10 mg) mit verschieden starker NaOH (je 5 cm³) versetzt, in Ampullen eingeschmolzen und 24 Std lang bei 100° C hydrolysiert wurde. Die Lösung wurde nach Beendigung des Versuches neutralisiert, zur Trockne eingedampft und mit 2 cm³ Methanol aufgenommen. Davon wurden 0,1 cm³ zur papierchromatographischen und hochspannungs-papierelektrophoretischen Analyse verwendet.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 4 zusammengefaßt. Neben den in der Tabelle aufgeführten, in höherer Konzentration vorliegenden Stoffen treten bei der Tryptophanhydrolyse noch weitere Abbauprodukte auf, die sich mit dem Reagens nach v. ECK nachweisen lassen [R_f-Wert: 0,14 (orange) und 0,32 (gelb)].

Es ist auffallend, daß bei der Tryptophanhydrolyse mit starken Laugen IES nicht als Abbauprodukt auftritt, sondern erst bei der Hydrolyse mit 0,1%iger NaOH festgestellt werden kann. Mit steigender Laugenverdünnung nimmt die Konzentration der gebildeten IES etwas zu. Diese Tatsache deutet darauf hin, daß entweder in den starken Laugen keine IES gebildet wird, oder daß diese sich ihrerseits unter den Hydrolysebedingungen zersetzt.

Deshalb wurde ein Versuch durchgeführt, bei dem 10 mg IES in 5 cm³ 10%iger NaOH gelöst und 24 Std bei 100° C hydrolysiert wurde neben einer entsprechenden wäßrigen Lösung. Nach 24 Std war die wäßrige IES-Lösung rot-braun gefärbt und roch sehr stark nach Skatol, während die alkalische Lösung farblos blieb und sich nur durch einen sehr schwachen Skatolgeruch auszeichnete. Papierchromatographisch unterschieden sich beide Hydrolysate ebenfalls voneinander.

Als Abbauprodukte konnten in der wäßrigen Lösung neben Skatol der β-Indolaldehyd und die β-Indolylglykolsäure nachgewiesen werden. Dagegen trat im alkalischen Hydrolysat neben sehr wenig Skatol auch der β-Indolaldehyd nur in Spuren auf; β-Indolylglykolsäure fehlte vollständig, dagegen konnte eine nicht zu identifizierende Substanz mit dem R_f-Wert von 0,04 nachgewiesen werden. Mit dem Perchlorsäurereagens färbt sich diese Zone rot-violett an[1].

Tabelle 4. *Tryptophanabbau durch Natronlauge (24 Std bei 100° C)*

Trennung erfolgte papierchromatographisch unter den in der Legende zu Tabelle 2 angegebenen Bedingungen.

NaOH-Konzentration %	Gefundene Hydrolysenprodukte	R_f-Wert	Färbung mit Perchlorsäure-reagens	Geschätzte Mengen	Farbe der Lösung
30	β-Indoylaldehyd	0,96	violett	+	hellgelb
	Tryptophan	0,26		+++	
20	β-Indolaldehyd	0,96		+	hellgelb
	?	0,30	rötlich	+	
	Tryptophan	0,26	violett	+++	
10	β-Indolaldehyd	0,96		+	
	?	0,43	blau-violett	+	farblos
	Tryptophan	0,26	violett	+++	
	?	0,05	grün-violett	++	
1	β-Indolaldehyd	0,96		++	
	?	0,43	blau-violett	+++	farblos
	Tryptophan	0,26	violett	+++	
	?	0,05	grün-violett	+	
0,1	β-Indolaldehyd	0,96		++	
	β-Indolylessigsäure	0,50	rot-violett	++	hellgelb
	?	0,24	blau-violett	+	gelb
	Tryptophan	0,21	violett	+++	
0,001	β-Indolaldehyd	0,96		+++	
	β-Indolylessigsäure	0,50	rot-violett	+++	braun
	Tryptophan	0,20	violett	+++	
H_2O	β-Indolaldehyd	0,96		+++	
(Kontrolle)	β-Indolylessigsäure	0,50	rot-violett	+++	braun
	Tryptophan	0,21	violett	+++	

+ = sehr schwach, ++ = schwach, +++ = stark.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß alkalische Hydrolysate der Gerstenblätter IES enthalten. Es mag sich dabei zum Teil

[1] Die Zersetzung der IES in wäßriger Lösung bei hoher Temperatur im Dunkeln gleicht dem bekannten photolytischen IES-Abbau (BRAUNER 1953, MELCHIOR 1957/58). Dagegen scheint der Abbau im stark alkalischen Milieu auf andere Weise zu erfolgen.

um die in der Pflanze gebunden vorliegende IES handeln; der größte Teil der nachweisbaren IES dürfte jedoch, wie aus den Modellversuchen hervorgeht, aus der Tryptophanhydrolyse stammen. Diese Ansicht deckt sich mit den Versuchsergebnissen von GORDON u. WILDMAN (1943), die bei der milden alkalischen Hydrolyse von synthetischem Tryptophan, sowie bei der Hydrolyse tryptophanhaltiger Proteine (vgl. auch SCHOKKEN 1949) eine Wuchsstoffwirkung des Hydrolysates im *Avena*-Test feststellten.

B. Versuche zum Nachweis von Tryptophan- bzw. IES-abbauenden Systemen in der Gerste

Es ist bekannt (z.B. WILDMAN u. Mitarb. 1947), daß in einigen Pflanzen ein Enzym vorliegt, das Tryptophan zu IES abbauen kann. Andere Autoren (z.B. TANG u. BONNER 1948) fanden daneben in verschiedenen Pflanzenarten ein Oxydasesystem, durch das die IES inaktiviert wird. In der Gerste ließ sich zwar keine freie IES, wohl aber Tryptophan nachweisen. Es war daher von Interesse zu prüfen, ob in Gerstenblättern ein Prinzip vorliegt, das Tryptophan zu IES abzubauen vermag.

I. Enzymatischer Tryptophanabbau

Zur Extraktion des tryptophanabbauenden Prinzipes wurde im wesentlichen nach der von TANG u. BONNER (1948) angegebenen Methode vorgegangen, die zur Extraktion des IES-abbauenden Enzyms ausgearbeitet wurde:

150—300 g Gerstenmaterial wurden mit möglichst wenig Phosphatpuffer nach SÖRENSEN vom p_H 6,5 homogenisiert, die Lösung vom Pflanzenmaterial abgenutscht. Das Enzym wird aus dem Extrakt durch Ausfällen mit Aceton gewonnen. Der Niederschlag wird mit wenig Puffer suspendiert und auf seine Tryptophan-abbauende Wirkung hin untersucht. Der Rückstand der Acetonfällung wurde bei Zimmertemperatur im Vakuum etwas eingeengt und ebenfalls untersucht.

In keiner der Extraktfraktionen ließ sich nach Zusatz von synthetischem Tryptophan nach einer Versuchsdauer bis zu 48 Std bei Zimmertemperatur IES papierchromatographisch nachweisen. Als einziges Abbauprodukt konnte eine Substanz papierchromatographisch und papierelektrophoretisch gefunden werden, die mit dem Gramin identisch ist (s. dazu auch BOWDEN u. MARION 1951).

II. Der Nachweis eines IES-abbauenden Prinzipes in der Gerste

Die Extraktion erfolgte in der oben angegebenen Weise. Fermentfraktion bzw. Rückstand wurden mit einer wäßrigen IES-Lösung der Konzentration 10^{-3} bis 10^{-4} g/cm³ im Verhältnis von 1:1 bis 4:1 versetzt. Nach einer Dauer von 3 bis zu 12 Std bei Zimmertemperatur in normalem Tageslicht oder bei Dunkelheit wurden

die Versuche ausgewertet. Zur Untersuchung des Heteroauxinabbaues wurde die Papierchromatographie herangezogen. Dabei können die Lösungen direkt auf das Papier aufgetragen und analysiert werden.

Der im Puffer gelöste Acetonniederschlag, also die Enzymfraktion, zeigt eine relativ schwache Wirkung. Die Enzymaktivität ist im Dunkeln etwas stärker als im Licht. Demnach scheint das wirksame Prinzip durch das Licht gehemmt zu werden. Als Abbauprodukte lassen sich neben der β-Indolylglykolsäure geringe Mengen Indol und in Spuren β-Indolaldehyd papierchromatographisch nachweisen.

Wesentlich stärker dagegen wirkt der bei der Acetonfällung verbleibende Rückstand. Im Gegensatz zu dem Enzym ist hier der IES-Abbau im Licht stärker als bei Dunkelheit. Papierchromatographisch lassen sich nach der Einwirkung des Rückstandes auf die IES die gleichen Abbauprodukte nachweisen wie bei der Behandlung durch das Enzym selbst.

Das in dem Acetonrückstand wirksame Prinzip ist thermolabil. Seine IES-abbauende Wirkung geht durch kurzes Aufkochen verloren. Die beiden Prinzipien lassen sich aus dem Extrakt nicht nur durch Acetonfällung, sondern auch durch die Ultrafiltration voneinander trennen. Der Filterrückstand (mit Phosphatpuffer, $p_H = 6{,}5$ aufgenommen) weist nur eine geringe, das Filtrat eine starke Aktivität auf. Demnach scheint es sich bei der wirksameren der beiden Substanzen um einen niedermolekularen Stoff zu handeln.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß in den Gerstenblättern IES-abbauende Prinzipien gefunden wurden. Am stärksten wirksam ist der Acetonrückstand. Der Acetonniederschlag, der nach den Angaben von TANG u. BONNER (1948) das Enzym enthält, weist nur eine geringe Aktivität auf.

Der Befund, daß ein Tryptophanabbau zu meßbaren IES-Konzentrationen durch Gerstenextrakt nicht erfolgt, dagegen aber IES-abbauende Systeme nachgewiesen wurden, kann zur Erklärung dienen, daß alle Versuche zum Nachweis in der Gerste frei vorliegender IES negativ verliefen: Der Abbau der IES scheint in der Pflanze stärker ausgeprägt zu sein als ihre Bildung aus dem Tryptophan.

Teil III. Chemische Analyse der Indolderivate der Gerste während des Übergangs in die reproduktive Entwicklung

Bei diesen Untersuchungen wurde der Gehalt an Indolderivaten während der Entwicklung von vernalisierter Gerste und entsprechenden Kontrollen miteinander verglichen. Berücksichtigt wurde vor allem der Zeitraum, in dem bei erstgenannten Pflanzen die Blütenprimordien

gebildet werden (Alter 9—12 Tage) und in dem die starke Streckung der Achse einsetzt (27—30 Tage). Die morphologischen Daten sind auf S. 449 ausführlich beschrieben.

A. Indolderivate

Zunächst erfolgte die Bestimmung des in relativ starker Konzentration vorliegenden Gramins im Blattpreßsaft[1]. Aus Abb. 6 geht hervor, daß der Graminspiegel vernalisierter Pflanzen stets etwas unter dem der Kontrollen liegt. Der Kurvenverlauf läßt 2 Maxima erkennen: am 11. und 28. Tag. Das 1. Konzentrationsmaximum fällt zeitlich mit der Anlage der Blütenprimordien, das 2. mit dem Schoßbeginn zusammen.

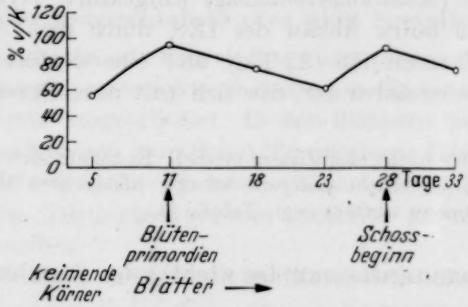


Abb. 6. Der Graminspiegel vernalisierter Gerste (V) während ihrer Entwicklung (Kontrolle = 100 = K)

Die quantitative photometrische Auswertung der übrigen, in angereicherten Methanolextrakten nachweisbaren Indolderivate der Gerste (s. Tabelle 2) konnte nicht vorgenommen werden, da ihre Konzentration zu gering ist. Quantitative Unterschiede wurden daher nur abgeschätzt.

Im allgemeinen läßt sich eine Konzentrationsabnahme der Indolderivate mit zunehmendem Alter der vernalisierten und Kontrollpflanzen feststellen, jedoch bei den Kontrollen nicht in so ausgeprägter Weise. Tryptophan ist nur in Körnern und bei Keimpflanzen sowie bei schossenden Exemplaren nachweisbar. Ein Vergleich verschieden weit entwickelter reproduktiver Pflanzen mit gleichaltrigen vegetativen Kontrollen ergibt stets das gleiche Bild: Die Indolderivate der reproduktiven Pflanzen liegen in geringerer Konzentration vor. Das gilt nicht nur für alkoholische Auszüge, sondern auch für deren Ätherfraktionen.

[1] Über die quantitative photometrische Auswertung der Chromatogramme wird in einer folgenden Mitteilung berichtet.

Die Frage, ob ein engerer Zusammenhang besteht zwischen den Konzentrationsänderungen der Indolderivate (außer Tryptophan) und dem Übergang der Pflanzen in die reproduktive Entwicklung, muß allerdings offen bleiben. So kann z.B. das Alkaloid Gramin nach der Ansicht PAECHs 1950, S. 243 wohl als Exkret aufgefaßt werden.

B. IES-abbauende Prinzipien

Aus den methodischen Versuchen ergibt sich, daß in der Gerste 2 IES-abbauende Prinzipien vorliegen. Die Aktivität beider Prinzipien ist bei Jungpflanzen höher als bei älteren Exemplaren. In älteren, vernalisierten Pflanzen (26—32 Tage alt) ist die Wirksamkeit des Aceton-Rückstandes höher als in gleichaltrigen Kontrollen, während sich das Enzym (Acetonniederschlag) umgekehrt verhält. Besonders auffällig ist, daß beim Abbau der IES durch den Acetonrückstand vernalisierter Pflanzen (26—32 Tage alt) eine weitere Zone mit dem R_f-Wert 0,28 nachweisbar ist, die sich mit dem Perchlorsäurereagens rot anfärbt.

Diese Zone konnte nicht identifiziert werden. Es könnte sich dabei um diejenige Substanz handeln, die unter anderem bei der alkalischen Hydrolyse (20%ige NaOH) von Tryptophan auftritt (vgl. Tabelle 4).

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

Der Übergang von der vegetativen in die reproduktive Entwicklungsphase der vernalisierten Wintergerste wird am Vegetationspunkt verfolgt. Die Anlage der Blütenprimordien erfolgt 10—12 Tage nach der Aussaat (Dreiblattstadium). Zu diesem Zeitpunkt ist die für diese Gerste typische Zahl von 8 Blättern angelegt. Das Schossen setzt nach 28—30 Tagen, das Ährenschieben nach 55—60 und das Aufblühen nach 65—70 Tagen ein.

Bei der reproduktiven Entwicklung der Gerste wird zunächst die Ähre weitgehend differenziert (1. Phase); erst dann setzt das makroskopisch sichtbare Schossen ein (2. Phase). Der Einsatz der reproduktiven Phase nicht kältevorbehandelter, bei 18° C kultivierter Exemplare (Kontrollen) wird beträchtlich hinausgezögert, ihre Blattzahl entsprechend erhöht. Im Dauerlicht bleiben sie zunächst vegetativ und lassen eine Streckung des Vegetationspunktes nach 4—6 Wochen erkennen. Bei einem Teil dieser Pflanzen sind Blütenprimordien nach 8—12 Wochen vorhanden. Nur wenige Pflanzen kommen nach längerer Zeit zum Schossen und Ährenschieben.

Die Längen der Ober- und Unterblätter vernalisierter Kontrollpflanzen werden miteinander verglichen. Auffallend ist bei den

vernalisierten Exemplaren der mit der Entwicklung zunehmende Anteil des Unterblattes am Gesamtblatt. Dieses Verhältnis ist bei den Kontrollen vom 4. Blatt an nahezu konstant. Das Wachstum des Ober- und Unterblattes und des dazugehörigen Internodiums setzt nacheinander ein.

Die Blütenbildung vernalisierter Gerste wird durch UV-Bestrahlung gehemmt. Die Vegetationspunkte 4 Wochen alter, täglich 6 min lang bestrahlter Pflanzen zeigt nur eine leichte Streckung der Spitze. Entsprechende, nicht bestrahlte Exemplare beginnen bereits nach 4 Wochen zu schossen und haben ihre Ähren weitgehend differenziert.

Bei vernalisierter Gerste, die unter Stickstoffmangel aufwächst, werden die Blütenanlagen nur unwesentlich früher sichtbar, die Ausdifferenzierung der Ähre ist jedoch beschleunigt. Der Zeitpunkt des Schossens und des Ährenschiebens wird nicht beeinflußt.

Es wurden Methoden zur Extraktion, zur papierchromatographischen und hochspannungs-papierelektrophoretischen Auftrennung der Indolderivate der Gerste ausgearbeitet. In den Blättern lassen sich mehrere Indolderivate nachweisen, von denen Tryptophan, Gramin und β-Indolaldehyd identifiziert werden konnten. β-Indolylessigsäure konnte auch in angereicherten Blattextrakten aus größeren Materialmengen nicht nachgewiesen werden.

Durch die alkalische Hydrolyse der Blätter wird zwar β-Indolylessigsäure freigesetzt, doch dürfte diese, wie aus Versuchen über die Tryptophanzersetzung mit Natronlauge hervorgeht, vor allem ein Abbauprodukt des pflanzeneigenen Tryptophans sein.

Neben einem schwach wirksamen, hochmolekularen Prinzip wird ein aktiveres, niedermolekulares β-Indolylessigsäure abbauendes System in Gerstenblättern nachgewiesen.

Ein Vergleich von vegetativen und reproduktiven Pflanzen zeigt keine qualitativen Unterschiede der Indolderivate. Bei letzteren liegen sie stets in geringerer Konzentration vor.

Literatur

Andersen, S.: Methods for determining stages of development in barley and oats. Physiol. Plantarum (Cph.) **5**, 199—210 (1952).

Augsten, H.: Fermentaktivität und Atmung bei Sommergerste nach Kältebehandlung des Saatgutes. Wiss. Abh. Nr 20. Berlin: Akademie Verlag 1956.

Behrens, M., u. A. Fischer: Zerlegung von Stoffgemischen und Identifizierung von chemischen Substanzen durch Verdampfen und Kondensieren in einem Wärmegradienten. Naturwissenschaften **41**, 13 (1954).

Bennet-Clark, T.A., M.S. Tambiah and N.P. Kefford: Estimation of plant growth substances by partition chromatography. Nature (Lond.) **169**, 452—453 (1952).

BOMMER, D.: Trennung von Schoßvorgang und Blütenanlage bei Glatthafer Arrhenatherum elatius (L.) J. et Pr. Naturwissenschaften **47**, 71 (1960).

BONNER, J., and J. LIVERMAN: Hormonal control of flower initiation. In: Growth and differentiation in plants, ed. by W. E. LOOMIS, p. 283. Iowa State College Press 1953.

BONNET, O.T.: The development of the barley spike. J. Agr. Res. **51**, 451—457 (1935).

BORODIN, L.: The influence of nitrogenous and mineral nutrition on the time of heading in barley and millet under the conditions of different day length. Bull. appl. Bot. Genetics and Plant Breeding **27**, 171 (1931).

BOWDEN, K., and L. MARION: The biogenesis of alkaloids. V. Radioautographs of barley leaves fed with Tryptophan-β-C_{14}. Canad. J. Chem. **29**, 1043—1045 (1951).

BRAUNER, L.: Untersuchungen über die Photolyse des Heteroauxins I. Z. Bot. **41**, 291—341 (1953).

BÜNNING, E.: Leaf growth under constant conditions and as influenced by light-dark cycles. In: The growth of leaves, ed. by F. L. MILTHORPE, p. 119. London 1956.

ČAJLACHJAN, M. CH.: Flowering in different plant species as a response to nitrogeneous food. C. R. Acad. Sci. URSS. **47**, H. 2, 146—149 (1945).

*CHOLODNY, N.C.: Phytohormones, growth and development of plants. J. bot. Acad. Sci. RSS. Ukraine **1**, 237—252 (1940).

CLAUSS, H.: Kritische Untersuchungen über den Kressewurzeltest nach MOEWUS. Z. Naturforsch. **7b**, 112—117 (1952).

COOKE, A.R.: Changes in free auxin content during the photoinduction of short-day plants. Plant Physiol. **29**, 440—444 (1954).

DENFFER, D. v.: Über das Zusammenwirken von Keimstimmung und täglicher Belichtungsdauer auf die Entwicklung von Sinapis und Hordeum. Jb. wiss. Bot. **88**, 749—815 (1939).

— Über die Wechselbeziehungen zwischen Stickstoffbedürfnis und photoperiodischer Reaktion bei einigen Lang- und Kurztagpflanzen. Planta (Berl.) **31**, 418—447 (1940).

— Blühhormon oder Blühhemmung? Neue Gesichtspunkte zur Physiologie der Blütenbildung. Naturwissenschaften **37**, 296—301, 317—321 (1950).

—, u. L. SCHLITT: Blühförderung durch Ultraviolettbestrahlung. Naturwissenschaften **38**, 564—565 (1951).

FISCHER, A.: Über die papierchromatographische und papierelektrophoretische Trennung von Indolderivaten. Planta (Berl.) **43**, 288—314 (1954).

GASSNER, G.: Beiträge zur physiologischen Charakteristik sommer- und winterannueller Gewächse, insbesondere der Getreidepflanzen. Z. Bot. **10**, 417—480 (1918).

GORDON, S.A., and R.P. WEBER: Colorimetric estimation of indole acetic acid. Plant Physiol. **26**, 192—195 (1951).

—, and S. G. WILSMAN: The conversion of tryptophane to a plant growth substance by conditions of mild alkalinity. J. biol. Chem. **147**, 389—398 (1943).

GREGORY, F.G., and E.C.D. BAPTISTE: Physiological studies in plant nutrition. V. Carbohydrate metabolism in relation to nutrient deficiency and to age in the leaves of barley. Ann. Botany **50**, 579—619 (1936).

JERSCHEL, D., u. R. MÜLLER: Papierchromatographie der β-Indolylessigsäure. Naturwissenschaften **38**, 561—562 (1951).

KANDLER, O.: Papierchromatographischer Nachweis der Aminosäurenausscheidung in vitro kultivierter Maiswurzeln. Z. Naturforsch. **6b**, 437—445 (1951).

KLEBS, G.: Über Probleme der Entwicklung. III. Biol. Zbl. **24**, 545—559 (1904). — Über Variationen der Blüten. Jb. Bot. **42**, 155—320 (1906).

KNODEL, H.: Läßt sich die Klebssche Ansicht über die Abhängigkeit der Blütenbildung von der chemischen Zusammensetzung der Pflanzen aufrechterhalten? Z. Bot. **29**, 449—501 (1936).

LAIBACH, F., u. F. MEYER: Über die Schwankungen des Auxingehaltes bei Zea mays und Helianthus annuus im Verlauf der Ontogenese. Senckenbergiana **17**, 73—86 (1935).

LARSEN, P.: Formation, occurence and inactivation of growth substances. Ann. Rev. Plant Physiol. **2**, 169—198 (1951).

LINSER, H.: Versuche zur chromatographischen Trennung pflanzlicher Wuchsstoffe. Planta (Berl.) **39**, 377—401 (1951).

—, u. F. MASCHEK: Kolorimetrische und biologische Bestimmung sowie chromatographische Trennung von Wuchsstoffen aus der Pflanze. Planta (Berl.) **41**, 567—588 (1953).

—, H. MAYR u. F. MASCHEK: Papierchromatographie von zellstreckend wirksamen Indolkörpern aus Brassica-Arten. Planta (Berl.) **44**, 103—120 (1954).

LINSKENS, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.

MELCHIOR, G. H.: Über die in vitro-Umwandlung von Indolderivaten durch ultraviolettes Licht und ein Enzymsystem aus Weißkohl. Planta (Berl.) **50**, 262—290, 557—575 (1957/58).

MOEWUS, F.: Der Kressewurzeltest, ein neuer quantitativer Wuchsstofftest. Biol. Zbl. **68**, 118—140 (1949).

MUSCHIK, M.: Entwicklungsphysiologische Studien am Vegetationskegel von Hordeum distichum (Ackermanns Isaria-Gerste) in Abhängigkeit von Tageslänge und Lichtintensität. Planta (Berl.) **49**, 598—606 (1957).

PAECH, K.: Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe, S. 243. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1950.

PIRSCHLE, K., u. F. v. WETTSTEIN: Einige vorläufige Beobachtungen über die Wirkung verschiedener Lichtintensitäten und -qualitäten auf höhere Pflanzen unter konstanten Bedingungen. Biol. Zbl. **60**, 626 (1940).

PURVIS, O. N., and F. G. GREGORY: Studies in vernalisation of cereals. I. A comparative study of vernalisation of winter rye by low temperature and by short days. Ann. Botany N.S. **1**, 569—591 (1937).

SCHNEIDER, G.: Biochemische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen zur Frage des Schossens und der Blütenbildung der Zuckerrübe. I. Mitt. Versuche zur experimentellen Beeinflussung der Blütenbildung und chemische Untersuchungen zum Nachweis der freien β-Indolylessigsäure. Planta (Berl.) **55**, 669—686 (1960).

—, u. G. SPARMANN: Über ein Verfahren zur Durchführung der Papier-Hochspannungselektrophorese ohne Kühlung. Naturwissenschaften **42**, 156 (1955).

SCHOCKEN, V.: The genesis of auxin during the decomposition of proteins. Arch. Biochem. **23**, 198 (1949).

SCULLY, N. J., N. W. PARKER and H. A. BORTHWICK: Relationship of photoperiod and nitrogen nutrition to initiation of flower primordia in soybean varieties. Bot. Gaz. **107**, 218 (1945).

SÖDING, H.: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952.

SPARMANN, G., u. G. SCHNEIDER: Die Anwendung der Ultrafiltration zur Fraktionierung von Pflanzenpreßsäften und -extrakten. Naturwissenschaften **42**, 298 (1955).

TANG, Y. W., and J. BONNER: The enzymatic inactivation of indole acetic acid. II. The physiology of the enzyme. Amer. J. Bot. **35**, 172—179 (1948).

VELENOVSKY, J.: Vergleichende Morphologie der Pflanzen, S. 550. Prag 1905.

VLITOS, A. W., and W. MEUDT: The role of auxin in plant flowering. I. A quantitative method based on paper chromatography for the determination of indole compounds and of 3-indoleacetic acid in plant tissues. Contrib. Boyce Thompson Inst. **17**, 197—202 (1953).

WILDMAN, S. A., F. G. FERRI and J. BONNER: The enzymatic conversion of tryptophane to auxin by spinach leaves. Arch. Biochem. **13**, 131—144 (1947).

Die mit * bezeichneten Arbeiten standen mir lediglich als Referat zur Verfügung.

Dr. GISELA SPARMANN,
z. Z. Northeim (Hann.), Wallstr. 1

Planta 56, 475—478 (1961)

Kurze Mitteilung

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen

EINE ANDROGENE HAPLOIDE *OENOTHERA SCABRA*

Von

ERIK HAUSTEIN

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 21. Dezember 1960)

Der aus der Kreuzung zwischen den komplexheterozygotischen *Oenothera Berteriana* (mit den Komplexen B und *l*) und *Oenothera odorata* (mit den Komplexen v und I) stammende Bastard *l*·I mit der Diakinese-Anordnung 8 + 4 + 2 bildet neben den Fortpflanzungszellen mit den Komplexen *l* bzw. I noch Fortpflanzungszellen mit dem aus dem I-Komplex abgeleiteten Austauschkomplex II, bei dem die zwei I-Chromosomen des Vierer-Rings durch die entsprechenden zwei *l*-Chromosomen ersetzt sind, während Fortpflanzungszellen mit dem komplementären Austauschkomplex (*l'*) mit fünf *l*-Chromosomen und zwei I-Chromosomen des Vierer-Rings bisher noch nie aufgetreten sind. Alle Komplexe treten außerdem noch durch Spaltung nach dem freien Paar getupft und ungetupft auf.

In einer Kreuzung dieser komplexheterozygotischen *l*·I mit der homozygotischen *Oenothera scabra*: *l*·I × hsc·hsc wurden unter 794 aufgezogenen Pflanzen neben den *l*·hsc, I·hsc und II·hsc, jeweils getupft und ungetupft, zwei einander fast völlig gleiche Pflanzen von gänzlich abweichendem Aussehen beobachtet, die zunächst nicht identifiziert werden konnten: An einem gerade aufsteigenden, kräftigen Haupttrieb waren die untersten Seitentriebe nur ganz schwach entwickelt; erst die oberen Seitentriebe waren etwas stärker, so daß die Pflanze dadurch eine gewisse Ähnlichkeit mit einem Zwergbäumchen bekam. Die Blätter waren schmal linealisch weidenähnlich, fast ganzrandig mit nur unmerklichen Zähnchen. Manche Blätter waren leicht sichelförmig gekrümmt. Die Internodienlänge war sehr unterschiedlich; zum Teil standen drei bis vier Blätter dicht gedrängt zusammen, zum Teil waren die Internodien sehr lang. Der Sproßgipfel war locker und flatterig. Die in den Achseln der Brakteen stehenden Fruchtknoten waren sehr klein und taub, die Antheren der langröhrigen Blüten völlig steril. Bei weitgehender Gleichheit im ganzen Habitus unterschied sich die zweite

Pflanze von der eben beschriebenen dadurch, daß ihre Blätter etwas breiter, häufig unregelmäßig und an der Spitze manchmal zurückgekrümmt waren.

Die beiden in ihrem gesamten Habitus von den üblichen Oenotheren der *Raimannia*-Gruppe (*Oe. Berteriana*, *Oe. odorata*, *Oe. mollissima* usw.) so auffallend abweichenden Pflanzen zeigten nun auffällige Anklänge

Abb. 1. Links: haploide, rechts: diploide *Oenothera scabra*

an die *Oe. scabra*, die als Vater dieser Kreuzung verwendet war. Die fast doppelt so groß werdende *Oe. scabra* ist von einem äußerst kräftigen Wuchs, reich verzweigt mit starker Förderung der unteren Seitenzweige; die breiten, nach der Basis zu abgerundeten Blätter sind stark gezähnt und gewellt, der Sproßgipfel dicht buschig und flatterig.

Trotz der starken Unterschiede schien die Möglichkeit zu bestehen, daß es sich bei den beiden Abweichern um haploide *Oe. scabra* handeln könnte, wofür auch die völlige Sterilität sprach. Tatsächlich ergab die cytologische Untersuchung der PMZ in zahlreichen Präparaten 7 Chromosomen mit dem für Haploide typischen Verhalten.

Die Herstellung von Dauerpräparaten aus KES-Quetschpräparaten geschah dabei in folgender schon mehrere Jahre erprobten Weise: Nachdem die Antheren wie üblich in reiner KES gekocht waren, wurde zum Quetschen nicht wieder reine KES genommen, sondern an ihrer Stelle eine ± dünnflüssige Mischung aus KES + Celodal (Bayer). In dieser Mischung, von der nur so viel zugegeben wurde, daß nach dem Quetschen nichts unter dem Deckglas hervortrat, wurden die Antheren nun gequetscht, und ohne jede weitere Behandlung sind die Dauerpräparate fertig, die schon nach wenigen Tagen vollkommen hart sind.

Damit konnte also neben den bisher beschriebenen Fällen androgener Haploider, nämlich *Nicotiana langsdorffii* (KOSTOFF 1929), *Nicotiana tabacum* (CLAUSEN u. LAMMERTS 1929), *Nicotiana sylvestris* (KOSTOFF 1934), *Crepis tectorum* (GERASSIMOVA 1936), *Antirrhinum majus* (KNAPP 1939, MALY 1958), *Capsicum frutescens* (CAMPOS u. MORGAN 1958) und *Hordeum vulgare* (DAVIES 1958) ein weiterer Fall androgener Haploidie nachgewiesen werden. Was dabei aber vor allem auffällt, ist die verhältnismäßig große Häufigkeit, indem sich unter 794 Pflanzen gleich zwei Haploide fanden. Diese Tatsache läßt vielleicht folgende Erklärungsmöglichkeit zu: Nach LEUCHTMANN degenerieren Gonen mit dem Austauschkomplex *l'*, die in gleicher Häufigkeit wie die Gonen mit dem Austauschkomplex II gebildet werden; diese Degeneration könnte nun bei einigen Gonen so spät erfolgen, daß *scabra*-Pollenschläuche von Samenanlagen mit ihnen gerade noch angezogen werden und eine Befruchtung durchführen können. In der befruchteten Eizelle kommt es jedoch nicht mehr zu einer Kernverschmelzung, sondern der eingedrungene männliche Kern entwickelt sich zu einem haploiden Embryo. Wie die Tatsache zu erklären ist, daß die beiden Haploiden geringfügige Unterschiede aufwiesen, muß offenbleiben (Übertragung von *scabra*-Plastiden? vgl. dazu auch DAVIES 1958). Die Möglichkeit, daß sich eine Spermazelle auch außerhalb der Eizelle in der Spitze des sich nicht öffnenden Pollenschlauchs in situ zu einem haploiden Embryo entwickelt (MAHESHWARI 1950, S. 319) erscheint unwahrscheinlich, da sonst eine Steigerung in der Häufigkeit durch Erhöhung der Intensität der Bestrahlung (MALY 1958) schwer verständlich wäre. Nach den bisher bekanntgewordenen Fällen androgener Haploider scheinen folgende Voraussetzungen für ihre Entstehung notwendig zu sein: Eindringen einer Spermazelle in die Eizelle und unterbleibende Verschmelzung von Ei- und Spermakern (in vielen Fällen wohl als Folge einer Degeneration des Eikerns bei noch funktionstüchtigem Eizellplasma). Eine ungestörte Endospermentwicklung ist eine selbstverständliche Voraussetzung. Unter diesen Gesichtspunkten könnte in dem hier beschriebenen Fall einer androgenen haploiden *Oenothera scabra* die Möglichkeit bestehen, durch möglichst frühzeitige Bestäubung der *l*·I-Mutterpflanze, eventuell noch in der geschlossenen Knospe, also zu einer Zeit, wo die Degeneration

des *l'*-Komplexes noch nicht auf das Eizellplasma übergegriffen hat, die Häufigkeit haploider *Oenothera scabra* zu steigern.

Zusammenfassung

Zwei in einer Kreuzung des komplexheterozygotischen Bastards *l*·I mit der homozygotischen *Oenothera scabra* aufgetretene androgene Haploide werden beschrieben. Die Möglichkeit ihrer Entstehung wird besprochen.

Literatur

Campos, F. F., and D. T. Morgan jr.: Haploid pepper from a sperm. An androgenic haploid of *Capsicum frutescens*. J. Hered. **49**, 134—137 (1958).

Clausen, R. E., and W. E. Lammerts: Interspecific hybridization in *Nicotiana*. X. Haploid and diploid merogony. Amer. Naturalist **63**, 279—322 (1929).

Davies, D. R.: Male parthenogenesis in barley. Heredity **12**, 493—498 (1958).

Gerassimova, H.: Experimentell erhaltene haploide Pflanze von *Crepis tectorum* L. Planta (Berl.) **25**, 696—702 (1936).

Knapp, E.: Haploide Pflanzen von *Antirrhinum majus*. Ber. dtsch. bot. Ges. **57**, 371—379.

Kostoff, D.: An androgenic *Nicotiana* haploid. Z. Zellforsch. **9**, 640—642 (1929). — A haploid plant of *Nicotiana sylvestris*. Nature (Lond.) **133**, 949—950 (1934).

Leuchtmann, G.: Die Eliminierung von Austauschgonen bei Oenotheren. II. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **86**, 480—497 (1955).

Maheshwari, P.: An introduction to the embryology of angiosperms. New York-Toronto-London: McGraw-Hill 1950.

Maly, R.: Die Mutabilität der Plastiden von *Antirrhinum majus* L. Sippe 50. Z. Vererb.-Lehre **89**, 692—696 (1958).

Schwemmle, J.: Genetische und zytologische Untersuchungen an Eu-Oenotheren. I. Teil. Die Analyse der *Oenothera Berteriana* und *Oenothera odorata*. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **75**, 361—468 (1938).

Prof. Dr. Erik Haustein, Botanisches Institut der Universität Erlangen, Schloßgarten 4

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigung bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Vorläufige Mitteilungen werden nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellungen der Tatbestände ist zulässig.

II. Formelle Anforderungen

Originalarbeiten sollen nicht umfangreicher als zwei Druckbogen (à 16 Druckseiten) sein; Kurze Mitteilungen dürfen den Umfang von vier Druckseiten nicht überschreiten.

Das Manuskript muß leicht leserlich und einseitig geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzureichen, ebenso die Legenden. Die Arbeiten müssen knapp und sprachlich klar geschrieben sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. *Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen* (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) *herzustellen.*

Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

Für die Rechtschreibung ist die „wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt.

Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse anzufügen. Eine Übersetzung dieser Zusammenfassung in eine andere der Kongreß-Sprachen kann in Petit-Druck hinzugefügt werden, sofern beide Zusammenfassungen nicht mehr als insgesamt $1^1/_2$ Druckseiten beanspruchen.

Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text, oder wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen und angefordert werden kann.

Die Abbildungen sind auf das unbedingt notwendige zu beschränken. Knappe Abbildungsunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Unzulässig ist die doppelte Darstellung in Tabelle *und* Kurve. Für Halbtonbilder (Photos, Mikrophotos, Halbtonzeichnungen) sind reproduktionsfähige, d.h. scharfe, gut durchgezeichnete und tonwertreiche Vorlagen (Hochglanzabzüge) einzureichen. Die Beschriftung der Abbildungen mit Buchstaben und/oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise sind auf einem über die Vorlage geklebten Deckblatt einzureichen. Für schematische Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzungen reproduziert werden sollen, sind saubere, klare Skizzen abzuliefern, die vom Verlag umgezeichnet werden.

Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen (jeweils mit Anfangsbuchstaben des Vornamens) *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und weniger wichtigen Teilen ist für Kleindruck vorzumerken. Autorennamen sollen (für KAPITÄLCHEN-Druck) doppelt, lateinische Namen der Objekte (für *Kursiv*-Druck) geschlängelt unterstrichen werden. In Kursiv-Druck können auch andere Worte des Textes gesetzt werden, die der Autor besonders hervorzuheben wünscht.

Das Zerlegen der Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel nicht die gleichen sind.

Danksagungen können in Form von Fußnoten zum Beitragstitel oder als kurzer Petitabschnitt am Schluß der Arbeit gebracht werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

In der Korrektur sollen nur Druckfehler verbessert, jedoch keine inhaltlichen oder stilistischen Änderungen vorgenommen werden. 10% der Satzkosten übersteigende Korrekturkosten müssen den Autoren in Rechnung gestellt werden.

Praktikum der Papierchromatographie

Anleitung zu Übungen in der papierchromatographischen Untersuchung pflanzlicher Inhaltsstoffe

Von H. F. Linskens,

Universität Nijmegen, Botanisches Institut,

und Luise Stange,

Universität Köln, Institut für Entwicklungsphysiologie

Mit 27 Abbildungen. VIII, 51 Seiten Gr.-8°. 1961.

Broschiert mit Kunststoff-Spiralheftung DM 9,80

AUS DEM VORWORT

Die papierchromatographische Technik gewinnt steigend an Bedeutung für die Untersuchung pflanzlicher Stoffe und Stoffwechselprozesse. Sie vermittelt mit geringem apparativem Aufwand Zugang zu biologischen Problemen.

Diese Anleitung ist für die Hand des Studierenden gedacht. Nach Durcharbeiten der 12 Übungen in der dargestellten Reihenfolge soll der Experimentator in der Lage sein, die Methodik der Papierchromatographie auf Grund der gewonnenen Erfahrungen und mit Hilfe der speziellen Literatur sinnvoll zur Lösung eines Problems einzusetzen. Es ist die Absicht, die Möglichkeiten und Grenzen der Papierchromatographie sichtbar zu machen. Die Anlage der Handleitung soll auch bei beschränkter Zeit und mit einfachen Mitteln ein sicheres Arbeiten ermöglichen: Alle Versuche sind der Unterrichtspraxis entnommen; die Protokoll-Führung wird durch Vordrucke erleichtert, eine abschließende Frage soll dem Unterrichtenden eine Kontrolle der aktiven Mitarbeit bzw. beim Alleinstudium eine Selbstkontrolle ermöglichen.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz A G., Würzburg
Printed in Germany